

Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik,  
Laborparametern und Ergebnissen des Adrenokortikotropen-  
Hormon-Stimulationstests bei Hunden mit  
Hyperadrenokortizismus unter Therapie mit Trilostan

von Sophie Glöckner

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik,  
Laborparametern und Ergebnissen des Adrenokortikotropen-  
Hormon-Stimulationstests bei Hunden mit  
Hyperadrenokortizismus unter Therapie mit Trilostan

von Sophie Glöckner  
aus Aschaffenburg

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Medizinische Kleintierklinik

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Mitbetreuung durch Dr. Astrid Wehner

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael Erhard

Tag der Promotion: 31. Januar 2015

*In Liebe und Dankbarkeit meiner Familie*

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT: THERAPIEBEWERTUNG BEI HUNDEN MIT HYPERADRENOKORTIZISMUS.....</b>	<b>2</b>
<b>1.</b>	<b>Derzeitige Empfehlungen zur Therapiebewertung.....</b>	<b>2</b>
1.1.	Empfehlungen des Herstellers.....	2
1.2.	Empfehlungen in der veterinärmedizinische Fachliteratur .....	3
<b>2.</b>	<b>Veränderung labordiagnostischer Parameter und Hormontests .....</b>	<b>4</b>
2.1.	Hormontests und -bestimmungen.....	5
2.1.1.	ACTH-Stimulationstest .....	5
2.1.2.	Kortisol-Konzentration.....	7
2.1.3.	Urin-Kortisol-Kreatinin-Quotient .....	8
2.1.4.	ACTH-Konzentration.....	9
2.1.5.	Schilddrüsenhormone.....	10
2.1.6.	Parathormon .....	12
2.1.7.	Plasma-Aldosteron-Konzentration .....	14
2.1.8.	Plasma-Renin-Aktivität .....	15
2.2.	Laborparameter .....	15
2.2.1.	Alkalische-Phosphatase-Aktivität .....	16
2.2.2.	Konzentration der Blutfette .....	16
2.2.3.	Akute-Phase-Proteine.....	17
2.2.4.	Urin-spezifisches Gewicht .....	19
2.2.5.	Urin-Protein-Kreatinin-Quotient.....	19
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>26</b>
<b>1.</b>	<b>Voruntersuchung.....</b>	<b>26</b>
1.1.	Befragung von Endokrinologen .....	26
1.1.1.	Beurteilung des Therapieerfolges.....	27
1.1.2.	Dosierung von Trilostan.....	28
1.2.	Entwicklung eines Besitzerfragebogens.....	28
<b>2.</b>	<b>Hauptuntersuchung .....</b>	<b>29</b>
2.1.	Material .....	29
2.1.1.	Patientengut.....	29

2.1.2.	Ein- und Ausschlusskriterien .....	30
2.1.3.	Signalement .....	30
2.1.4.	Klassifizierung .....	31
2.2.	Methoden.....	31
2.2.1.	Dosierung von Trilostan und Untersuchungszeitpunkte .....	31
2.2.2.	Untersuchungen.....	32
2.2.2.1.	Anamnese und klinische Untersuchung .....	32
2.2.2.2.	Laboruntersuchungen .....	33
2.2.2.2.1.	Blutbild mit Differenzialblutbild.....	33
2.2.2.2.2.	Biochemie.....	33
2.2.2.2.3.	Urinuntersuchung .....	34
2.2.2.2.4.	ACTH-Stimulationstest.....	35
2.2.3.	Statistische Auswertung .....	35
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>38</b>
<b>1.</b>	<b>Ergebnisse der Voruntersuchung .....</b>	<b>38</b>
1.1.	Beurteilung des Therapieerfolgs .....	38
1.2.	Dosierung von Trilostan.....	41
<b>2.</b>	<b>Ergebnisse der Hauptuntersuchung.....</b>	<b>41</b>
2.1.	Klinische Symptome und Laborparameter.....	42
2.2.	Korrelationen.....	44
2.2.1.	Korrelation der klinischen Parameter und der Besitzerzufriedenheit mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration .....	45
2.2.2.	Korrelation der Laborparameter mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration.....	45
2.2.3.	Korrelation der Basis-Kortisol-Konzentration mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration.....	48
2.2.4.	Korrelation der klinischen Symptome Polydipsie, Polyurie und Polyphagie mit den Laborparametern .....	48
2.3.	Evaluierung der neu-diagnostizierten Patienten im Therapieverlauf .....	49
2.3.1.	Labor- und Hormonwerte.....	49
2.3.1.1.	Basis- und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration .....	51
2.3.1.2.	Urin-spezifisches Gewicht .....	52
2.3.2.	Entwicklung der klinischen Symptome.....	53
2.3.2.1.	Entwicklung der klinischen Symptome von Therapiebeginn bis zur ersten	

---

	Therapiekontrolle .....	53
2.3.2.2.	Veränderung der klinischen Symptome von erster bis zweiter Therapiekontrolle .....	53
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>54</b>
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>68</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>70</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>72</b>
<b>IX.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>84</b>
<b>1.</b>	<b>Fragebogen für Endokrinologen.....</b>	<b>84</b>
<b>2.</b>	<b>Fragebogen für Besitzer.....</b>	<b>93</b>
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>98</b>



## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

### Maßangaben:

fmol/l/s	Femtomol pro Liter pro Sekunde
mg	Milligramm
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
nmol/l	Nanomol pro Liter
pg/ml	Pikogramm pro Milliliter
pmol/l	Pikomol pro Liter
µg/dl	Mikrogramm pro Deziliter
µl	Mikroliter

### Sonderzeichen:

®	registered trademark (registrierte Warenmarke)
™	unregistered trademark (unregistrierte Warenmarke)
%	Prozent

### Abkürzungen:

ACTH	Adrenocorticotropic hormone (Adrenokortikotropes Hormon)
ADH	Adrenal-dependent hyperadrenocorticism (nebennierenabhängiger Hyperadrenokortizismus)
ADHAC	ACTH-dependent hyperadrenocorticism (ACTH-abhängiger Hyperadrenokortizismus)

---

AIHAC	ACTH-independent hyperadrenocorticism (ACTH-unabhängiger Hyperadrenokortizismus)
AP	Alkalische Phosphatase
ca.	circa
cTSH	canines Thyreotropin
CRP	C-reaktives Protein
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid (Ethylendiamintetraessigsäure)
fT4	freies Thyroxin
GK	Glukokortikoid/Glukokortikoide
HAC	Hyperadrenocorticism (Hyperadrenokortizismus)
Hp	Haptoglobin
IgG	Immunglobulin G
i. m.	intramuskulär
i. v.	intravenös
k. A.	keine Angabe
LDDS-Test	Low-dose dexamethasone suppression test (Low-dose-Dexamethason-Suppressionstest)
Min.	Minimum
Max.	Maximum
NAG	N-Acetyl- $\beta$ -D-Glukosaminidase
PAC	Plasma aldosteron concentration (Plasma-Aldosteron-Konzentration)
PRA	Plasma renin activity

---

	(Plasma-Renin-Aktivität)
PDH	Pituitary-dependent hyperadrenocorticism (hypophysenabhängiger Hyperadrenokortizismus)
PTH	Parathormon
RBP	Retinol-binding protein (Retinol-bindendes Protein)
s.	siehe
SAA	Serum-Amyloid A
SD	Standardabweichung
SIAP	steroid-induced alkaline phosphatase (steroid-induzierte Isoform der Alkalischen Phosphatase)
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
Tbl.	Tabelle
TSH	Thyreotropin
UCC	Urinary-corticoid-to-creatinine ratio (Urin-Kortisol-Kreatinin-Quotient)
UPC	Urinary-protein-to-creatinine ratio (Urin-Protein-Kreatinin-Quotient)
USG	Urin-spezifisches Gewicht
z. B.	zum Beispiel

## I. EINLEITUNG

Der spontane Hyperadrenokortizismus (HAC), auch bezeichnet als Cushing-Syndrom, stellt eine der häufigsten endokrinen Erkrankungen des Hundes dar. Unter der Einwirkung einer chronisch erhöhten Glukokortikoid (GK)-Konzentration kommt es zu einer Vielzahl an klinischen und labordiagnostischen Veränderungen (FELDMAN & NELSON, 2004). Hinsichtlich der Erkrankungsursache wird der spontane HAC eingeteilt in den Adrenokortikotropes-Hormon (ACTH)-abhängigen HAC (ADHAC), der vor allem durch einen hypophysenabhängiger HAC (PDH) bedingt ist, und in den ACTH-unabhängigen HAC (AIHAC), der vor allem durch einen unilateralen funktionellen Nebenrindentumor (Adenom oder Karzinom) (nebennierenabhängiger HAC (ADH)) hervorgerufen wird (BENCHEKROUN et al., 2010).

Trilostan<sup>1</sup> blockiert als kompetitiver Inhibitor des 3 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Enzym-Systems die Produktion von Kortisol (POTTS et al., 1978) und wird routinemäßig zur Behandlung des HAC bei Hunden eingesetzt (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002). Behandelte Patienten müssen regelmäßig kontrolliert werden, um eine adäquate Kontrolle der Kortisol-Sekretion sicherzustellen (BARKER et al., 2005; RAMSEY, 2010). Derzeit wird der Behandlungserfolg hauptsächlich durch die Ergebnisse eines ACTH-Stimulationstests (Basis-Kortisol-Konzentration und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration) überprüft (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; COOK & BOND, 2010). Auch wenn der ACTH-Stimulationstest regelmäßig eingesetzt wird, wurde er nie für die Therapiebewertung mit Trilostan validiert (RAMSEY, 2010). Die Erfassung der klinischen Symptomatik wird bislang nur subjektiv in die Therapiebewertung mit einbezogen. (VAUGHAN et al., 2008; COOK & BOND, 2010; GALAC et al., 2010). Ziel der vorliegenden Studie war die Ermittlung des Zusammenhangs zwischen den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstests (Basis-Kortisol-Konzentration und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration), der Ausprägung der klinischen Symptome (Polyurie, Polydipsie, Polyphagie) und ausgewählter Laborparametern.

---

<sup>1</sup> Vetoryl®, Dechra Veterinary Products, Shrewsbury, UK

## **II. LITERATURÜBERSICHT:**

### **THERAPIEBEWERTUNG BEI HUNDEN MIT HYPERADRENOKORTIZISMUS**

Bei der Therapie des HAC mit Trilostan sind regelmäßige Therapiekontrollen wichtig, denn auch zunächst gut eingestellte Patienten können einen Hypokortisolismus entwickeln oder weiterhin unter den Symptomen eines Hyperkortisolismus leiden (GALAC et al., 2010). Bei ungefähr 25 Prozent (%) der Hunde unter Therapie tritt zumindest eine Episode eines Hypokortisolismus auf. Viele Hunde reagieren zuerst sehr sensitiv auf Trilostan, benötigen im Verlauf der Therapie aber eine Dosiserhöhung. Bei manchen Hunden muss hingegen nach einiger Zeit die Dosis herabgesetzt werden (RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; ALENZA et al., 2006).

#### **1. Derzeitige Empfehlungen zur Therapiebewertung**

Um einem Hypokortisolismus vorzubeugen und eine adäquate Kontrolle der Kortisol-Sekretion sicherzustellen, sind regelmäßige Therapiekontrollen angeraten (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; WENGER et al., 2004; BARKER et al., 2005; ALENZA et al., 2006; REINE, 2007; VAUGHAN et al., 2008; RAMSEY, 2010). Im Folgenden sollen die derzeitigen Empfehlungen zur Therapiebewertung der Trilostan-Therapie von Hunden mit HAC erläutert werden.

##### **1.1. Empfehlungen des Herstellers**

Der Hersteller von Trilostan<sup>2</sup> empfiehlt zur Therapiekontrolle die Durchführung eines ACTH-Stimulationstests vier Stunden nach der morgendlichen Gabe von Trilostan, die Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen, eine biochemische Blutanalyse und eine klinische Untersuchung. Die Dosisanpassung soll vor allem abhängig von der Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation erfolgen. Als Ziel-Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation wird ein Bereich von 50 bis 200 Nanomol pro Liter (nmol/l) (1,8 – 7,3 Mikrogramm pro Deziliter (µg/dl)) angegeben. Bei Kortisol-Konzentrationen unter 50 nmol/l (1,8 µg/dl) wird eine

---

<sup>2</sup> Dechra Veterinary Products, Shrewsbury, UK

Unterbrechung der Therapie und bei klinisch instabilen Patienten der Ausschluss eines Hypokortisolismus durch ACTH-Stimulationstest und die Bestimmung der Elektrolyt-Konzentrationen empfohlen. Bei Werten im Bereich von 200 – 250 nmol/l (7,3 bis 9,1 µg/dl) rät der Hersteller zur Beobachtung klinischer Symptome unter Beibehaltung der Dosis und bei Werten über 250 nmol/l (9,1 µg/dl) wird eine Erhöhung der Trilostan-Dosis empfohlen.

Die Therapie sollte zunächst mit einmal täglicher Gabe von Trilostan begonnen werden. Lässt sich der Patient trotz Erreichen der Ziel-Kortisol-Konzentration hiermit nicht gut einstellen, kann im Verlauf der Therapie auf zweimal tägliche Gabe des Medikaments umgestellt werden.

Nach Beginn der Therapie und nach Anpassung der Dosis soll eine Therapiekontrolle nach zehn Tagen erfolgen. Weitere Therapiekontrollen sollen an Tag 28 und dann alle drei Monate durchgeführt werden. Nach dem ersten Jahr der Therapie können Kontrollen im Abstand von vier bis sechs Monaten erfolgen (Dechra Veterinary Products, 2013).

## **1.2. Empfehlungen in der veterinärmedizinischen Fachliteratur**

Derzeit gibt es in der veterinärmedizinischen Literatur keine Übereinstimmung über den optimalen Referenzbereich für die Ziel-Kortisol-Konzentration unter Therapie (NEIGER et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; WENGER et al., 2004; BARKER et al., 2005; ALENZA et al., 2006), die im Zuge des ACTH-Stimulationstest gemessen werden soll. Die Ziel-Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation wird sehr unterschiedlich festgelegt (BELL et al., 2006). Während in einigen Studien ein breiter Zielbereich (20 – 250 nmol/l / 0,7 bis 9,1 µg/dl) angegeben wird (NEIGER et al., 2002), wird in anderen Studien eher ein niedriger Zielbereich (27 – 69 nmol/l / 1,0 – 2,5 µg/dl) gewünscht (RUCKSTUHL et al., 2002). Die Anpassung der Trilostan-Dosis soll zusätzlich von der Verbesserung der klinischen Symptome Polyurie, Polydipsie und Polyphagie abhängig gemacht werden (GALAC et al., 2009).

Der Zielbereich für die stimulierte Kortisol-Konzentration wurde in aktuellen klinischen Studien, die den Therapieerfolg bei Patienten mit HAC evaluierten, vor Studienbeginn festgelegt und beruhte entweder auf Vorgaben des Herstellers (COOK & BOND, 2010), früheren Studien (SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006) oder wurde aus den Erfahrungen der Therapie mit Mitotane (RUCKSTUHL et al.,

2002) definiert. Im Verlauf der bisherigen klinischen Studien wurde bereits festgestellt, dass der vor Studienbeginn festgelegte Zielbereich nicht immer mit dem Verschwinden klinischer Symptome im Verlauf der Studie übereinstimmte. So wurde in einer Studie als Ziel-Kortisol-Konzentrationen ein Bereich von 30 bis 190 nmol/l (1,1 – 6,9 µg/dl) festgelegt, die klinischen Symptome verschwanden aber im Verlauf dieser Studie oft erst unter 100 nmol/l (3,6 µg/dl) (GALAC et al., 2010).

Beruhend auf der Auswertung und dem Vergleich mehrerer klinischer Studien (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; ALENZA et al., 2006; VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2010) wurde 2010 als Empfehlung angegeben (RAMSEY, 2010), den ACTH-Stimulationstest zwei bis vier Stunden nach der Gabe von Trilostan durchzuführen. Als Ziel-Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation wurde 40 – 120 nmol/l (1,4 – 4,3 µg/dl) angegeben. Bei einer ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration von 120 – 200 nmol/l (4,3 – 7,2 µg/dl) und gutem klinischen Ansprechen auf die Therapie wurde vorgeschlagen, keine Dosiserhöhung durchzuführen, dafür aber eine frühere Kontrolluntersuchung oder häufigere Kontrolluntersuchung anzuraten. In den meisten Studien zur Therapiebewertung wurde angegeben, das Ergebnis des ACTH-Stimulationstest und das klinische Bild heranzuziehen. Letzteres wurde aber nicht genau definiert (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; MCGROTTY et al., 2005; TEBB et al., 2005; ALENZA et al., 2006; KENEFICK & NEIGER, 2008; VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2009; COOK & BOND, 2010; GALAC et al., 2010; AUGUSTO et al., 2012; SMETS et al., 2012a; BURKHARDT et al., 2013).

## **2. Veränderung labordiagnostischer Parameter und Hormontests**

Im Folgenden sollen die Einflüsse der Therapie mit Trilostan bei Patienten mit HAC auf labordiagnostische Parameter und Hormontests näher erläutert werden. Außerdem wird auf ihre Tauglichkeit als Therapiemarker eingegangen. Hierbei wurden die einzelnen Parameter jeweils im Vergleich zu den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest betrachtet, da der ACTH-Stimulationstest bislang als Einstellungskriterium herangezogen wird. Eine „gute Einstellung“ der Patienten wird durch die Autoren in den beschriebenen Studien abhängig von den Kortisol-

Konzentrationen nach ACTH-Stimulation definiert. Einige Autoren beziehen auch die klinische Symptomatik in die Bewertung mit ein. Zur Übersicht werden in Tabelle (Tbl.) 1 am Ende des Kapitels für alle Studien die jeweils verwendeten Ziel-Kortisol-Konzentrationen angegeben, die für den Autor eine gute Einstellung angeben. In Tbl. 1 ist auch die jeweilige Durchführung des ACTH-Stimulationstests zusammengefasst.

## **2.1. Hormontests und -bestimmungen**

Die Veränderungen von Hormonkonzentrationen und Hormontests wurden bereits bei Patienten unter Therapie mit Trilostan untersucht. Die Ergebnisse dieser Studien werden im Folgenden beschrieben.

### **2.1.1. ACTH-Stimulationstest**

Der ACTH-Stimulationstest gilt bisher als Mittel der Wahl, um die Therapieeinstellung von Hunden mit HAC zu überwachen (NEIGER et al., 2002). Der ACTH-Stimulationstest gibt Aufschluss über die Kapazität der Nebennieren, Kortisol auszuschütten. Früher wurde zur Behandlung von Hunden mit HAC Mitotane eingesetzt. Dieses Medikament führt zu einer Zerstörung der Nebennierenrinde und somit zu einer verringerten Kortisol-Produktion (DUNN et al., 1995). Unter Therapie mit Mitotane zur Behandlung eines HAC und bei Hypoadrenokortizismus stellt der ACTH-Stimulationstest eine effektive Methode dar, um die Nebennierenfunktion zu beurteilen (RAMSEY, 2010), und wurde auf seinen Nutzen bei der Therapiebewertung für die Therapie mit Mitotane untersucht. Im Allgemeinen konnte eine gute klinische Einstellung bei ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentrationen zwischen 15 und 105 nmol/l (0,5 – 3,8 µg/dl) festgestellt werden (n = 30). Ein Wiederauftreten der klinischen Symptomatik war mit stimulierten Kortisol-Konzentrationen zwischen 210 und 590 nmol/l (7,6 – 21,3 µg/dl) verbunden. Regelmäßige Therapiekontrollen durch ACTH-Stimulationstest sind daher bei der Therapie mit Mitotane sinnvoll. Die Ergebnisse dieses endokrinen Tests können genutzt werden, um die Dosis anzupassen (DUNN et al., 1995). Mitotane ist nicht mehr zur Behandlung des HAC zugelassen. Da Trilostan nur einen reversiblen Effekt auf die Nebennierenrinde ausübt (POTTS et al., 1978) und sich ebenfalls als effektives Medikament zur Behandlung des caninen HAC erwies (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; EASTWOOD et al., 2003;



ALENZA et al., 2006; BENCHEKROUN et al., 2008; VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2009; GALAC et al., 2010), wird heute routinemäßig Trilostan zur Behandlung verwendet.

Für die Therapiebewertung mit Trilostan wurde der ACTH-Stimulationstest nie validiert (RAMSEY, 2010). Bei Hunden mit PDH ruft die Behandlung mit Trilostan einen signifikanten Abfall der Basis- und der stimulierten Kortisol-Konzentration hervor (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; WENGER et al., 2004; SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006). Derzeit gibt es in der veterinärmedizinischen Literatur keine Übereinstimmung über den optimalen Referenzbereich für die Ziel-Kortisol-Konzentration unter Therapie (NEIGER et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; WENGER et al., 2004; BARKER et al., 2005; ALENZA et al., 2006), die im Zuge des ACTH-Stimulationstests erreicht werden soll (siehe (s.) Tbl. 1).

Aufgrund der relativ kurz andauernden Wirkung von Trilostan variiert das Ergebnis des ACTH-Stimulationstest je nach Zeitpunkt der Durchführung im Verhältnis zur Gabe des Medikaments (BELL et al., 2006). Die Durchführung des ACTH-Stimulationstests variiert von Studie zu Studie stark. Der Zeitpunkt der Durchführung im Verhältnis zur Gabe von Trilostan wird sehr unterschiedlich angegeben. In früheren Studien wurde teilweise kein bestimmter Zeitpunkt festgelegt (NEIGER et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; ALENZA et al., 2006). Neuere Studien belegen, dass der Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests im Verhältnis zur Gabe von Trilostan festgelegt sein muss, damit die Ergebnisse vergleichbar sind (BELL et al., 2006). Trotzdem gibt es auch hier noch eine große Variation. Viele Autoren raten zur Durchführung vier bis sechs Stunden nach Applikation von Trilostan (RUCKSTUHL et al., 2002; MCGROTTY et al., 2005; KENEFICK & NEIGER, 2008; ARTEAGA et al., 2010), andere zur Durchführung nach zwei oder drei bis vier Stunden (VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2010). In einer Studie, in der alle Patienten Trilostan zweimal täglich erhielten, wurde der ACTH-Stimulationstest acht bis zwölf Stunden nach der Applikation durchgeführt (ALENZA et al., 2006) (s. Tbl. 1).

Einen weiteren Unterschied stellt der Zeitpunkt der Messung der stimulierten Kortisol-Konzentration nach Verabreichung des synthetischen ACTHs dar. Die Messung der stimulierten Kortisol-Konzentration erfolgt 30 Minuten (DUNN et al., 1995), 60 Minuten (BRADDOCK, 2003) oder 90 Minuten später (GALAC et

al., 2010).

### 2.1.2. Kortisol-Konzentration

Bei Hunden mit unbehandeltem HAC liegen erhöhte Basis-Kortisol-Konzentrationen vor. Die Basis-Kortisol-Konzentration sinkt signifikant unter Therapie mit Trilostan (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; WENGER et al., 2004; GALAC et al., 2010).

Es gibt zwei klinische Studien, in denen der Zusammenhang zwischen Basis- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration untersucht wurde. Hier wurde eine Korrelation zwischen Basis- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration mit einem Korrelationskoeffizient von 0,80 ( $P < 0,0001$ ,  $n = 148$  (BURKHARDT et al., 2013)) und 0,68 ( $P < 0,001$ ,  $n = 342$  (COOK & BOND, 2010)) festgestellt, was einen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern widerspiegelt.

Es wurde untersucht, ob eine einzelne Messung der Basis-Kortisol-Konzentration ausreichend ist, um die Therapie mit Trilostan bei Hunden mit HAC zu überwachen. Aus der Untersuchung von 103 Hunden vor und unter Therapie wurde als Zielbereich für die Basis-Kortisol-Konzentration unter Therapie ein Mindestwert von 36 nmol/l (1,3 µg/dl) ermittelt. Als Obergrenze wurde entweder eine Basis-Kortisol-Konzentration von 80 nmol/l (2,9 µg/dl) oder ein Absinken der vor Therapiebeginn gemessenen Kortisol-Konzentration um höchstens 50 % angegeben. Hierbei war der höhere Wert ausschlaggebend. Die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration wurde hierbei genutzt, um eine gute Einstellung zu definieren (s. Tbl.1) (COOK & BOND, 2010). In einer anderen Untersuchung lag bei gut eingestellten Hunden (s. Tbl. 1) die Basis-Kortisol-Konzentration bei 32 nmol/l (1,2 µg/dl; 2 – 101 nmol/l/0,1 – 3,7 µg/dl;  $n = 60$ ) (GALAC et al., 2010).

Anamnestische Informationen wie der allgemeine Gesundheitsstatus, Trink- und Urinmenge sowie Appetit beeinflussen wesentlich die Anpassung der Dosis (COOK & BOND, 2010). Zu dem Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests wurde die objektive Beurteilung des klinischen Status in den beiden zuvor genannten Studien nicht erfasst (COOK & BOND, 2010; GALAC et al., 2010). Somit konnte keine Beziehung zwischen Basis-Kortisol-Konzentration, Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation und klinischem Status ermittelt werden.

In einer aktuellen Studie wurden 148 ACTH-Stimulationstests bei Hunden mit PDH durchgeführt. Je nach ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration (s. Tbl.1)

wurde das Testergebnis in eine von drei Gruppen eingeordnet: exzessive Kontrolle ( $< 41 \text{ nmol/l}$ ;  $< 1,5 \text{ µg/dl}$ ), adäquate Kontrolle ( $41 - 149 \text{ nmol/l}$ ;  $1,5 - 5,4 \text{ µg/dl}$ ) und inadäquate Kontrolle ( $> 149 \text{ nmol/l}$ ;  $> 5,4 \text{ µg/dl}$ ). Den stimulierten Kortisol-Konzentrationen wurden die jeweiligen Basis-Kortisol-Konzentrationen zugeordnet und es konnte eine starke Überschneidung der Wertebereiche der Basis-Kortisol-Konzentrationen zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden. So konnte man zwar bei einer Basis-Kortisol-Konzentration von mehr als  $121 \text{ nmol/l}$  ( $4,4 \text{ µg/dl}$ ) von einer inadäquaten Kontrolle ausgehen, doch bei einer Basis-Kortisol-Konzentration von weniger als  $121 \text{ nmol/l}$  ( $4,4 \text{ µg/dl}$ ) war keine Zuordnung zu einer der drei Gruppen möglich. Eine Basis-Kortisol-Konzentration von mehr als  $28 \text{ nmol/l}$  ( $1,0 \text{ µg/dl}$ ) schloss bei 97 % der Hunde eine exzessive Kontrolle aus, aber eine korrekte Klassifizierung war nur bei 18 (21 %) der ACTH-Stimulationstests möglich. In dieser Studie wurde geschlussfolgert, dass die Bestimmung der Basis-Kortisol-Konzentration nicht die Bestimmung der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration ersetzen kann (BURKHARDT et al., 2013).

### **2.1.3. Urin-Kortisol-Kreatinin-Quotient**

Der Urin-Kortisol-Kreatinin-Quotient (UCC) repräsentiert eine Quantifizierung der GK-Produktion über einen bestimmten Zeitraum. Dies erscheint gegenüber der Messung der Kortisol-Konzentration im Blut vorteilhaft, da diese größeren Schwankungen unterliegt (RIJNBEEK et al., 1988).

Bei Patienten mit HAC ist der UCC in der Regel erhöht (ALENZA et al., 2006). Der Einfluss der Therapie mit Trilostan auf das UCC wurde in einer klinischen Studie mit 18 Hunden untersucht. Der UCC veränderte sich nicht statistisch signifikant über den Zeitraum der Therapie. Bei den meisten Hunden mit PDH blieb der UCC auch bei optimaler Einstellung der Patienten (s. Tbl. 1) erhöht (GALAC et al., 2009). Ein Absinken des UCC unter die obere Grenze des Referenzbereichs trat bei sechs Hunden der Studie auf. Drei zeigten in diesem Zusammenhang klinische Symptome eines Hypokortisolismus. Zu diesem Zeitpunkt wurde kein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Die anderen drei Hunde waren nicht symptomatisch, der ACTH-Stimulationstest sprach allerdings für einen Hypokortisolismus (GALAC et al., 2009).

Dass der UCC bei den meisten Hunden trotz guter Klinik und gutem Ergebnis im

ACTH-Stimulationstest (s. Tbl. 1) erhöht blieb, kann daran liegen, dass Trilostan oder Steroid-Metaboliten, die in den Urin ausgeschieden werden, im Kortisol-Immunoassay kreuzreagieren (BRADDOCK et al., 2003). Es ist fraglich, ob bei der Messung des UCC nicht nur freies Kortisol, sondern auch zusätzliche Substanzen mit ähnlicher Polarität, wie Kortisol-Vorläufer, gemessen wurden (STOLP et al., 1983; GALAC et al., 2009). Dies könnte erklären, warum bei den drei Hunden, die klinische Symptome eines Hypokortisolismus zeigten, die UCC nicht so niedrig waren, wie man es bei Hunden mit Hypokortisolismus erwarten würde. Diesen Kortisol-Vorläufern könnte dann jedoch kein klinisch relevanter GK-Effekt zugeschrieben werden, da Symptome eines Hypokortisolismus auftraten (GALAC et al., 2009). Da der UCC sich nicht statistisch signifikant über den Zeitraum der Therapie im Gegensatz zu der Reduktion der basalen und stimulierten Kortisol-Konzentrationen verändert hat, korrelierte er nicht mit den Kortisol-Konzentrationen nach ACTH-Stimulation. Somit wurde geschlussfolgert, dass der UCC kein zuverlässiger Therapiemarker ist. Allerdings wurde vorgeschlagen, dass der UCC hilfreich zur Identifikation von Hunden sein könnte, die ein erhöhtes Risiko haben, unter Therapie einen Hypokortisolismus zu entwickeln (GALAC et al., 2009).

In einer anderen Studie wurde der UCC ebenfalls bei mit Trilostan therapierten Hunden gemessen, allerdings wurden hier andere Schlussfolgerungen gezogen (BRADDOCK et al., 2003). Da die Wirkungsdauer von Trilostan bei oder unter 24 Stunden liegt (BRADDOCK et al., 2003; BELL et al., 2006), wurde der UCC als hilfreich beschrieben, die individuelle Wirkungsdauer von Trilostan abzuschätzen. Es wurde angenommen, dass die Wirkungsdauer des Medikaments bei Hunden, die einen hohen UCC am Morgen (vor der einmal täglichen morgendlichen Gabe von Trilostan) aufweisen, unter 24 Stunden liegt. Je höher der UCC desto kürzer die Wirkungsdauer von Trilostan (BRADDOCK et al., 2003).

#### **2.1.4. ACTH-Konzentration**

Die Konzentrationen des endogenen ACTH unterscheiden sich bei Patienten mit ADH und PDH. Während eine Konzentration unter 5 Pikogramm pro Milliliter (pg/ml) für einen adrenergen Tumor spricht, spricht eine Konzentration im Referenzbereich (20 – 80 pg/ml) oder darüber für einen PDH (GOULD et al., 2001; WITT & NEIGER, 2004).

Normalerweise erniedrigt Trilostan die Kortisol-Konzentration nur für einige Stunden auf niedrige bis normale Level (BELL et al., 2006). Folglich kommt es nur in diesem Zeitraum zu einer mäßigen Anhebung der Plasma-ACTH-Konzentration. Eine Kortisol-Hyposekretion, so wie sie bei einem primären Hypoadrenokortizismus vorliegt, induziert einen massiven Anstieg der Plasma-ACTH-Konzentration (PETERSON et al., 1996). Somit kann die Messung der Basis-Plasma-ACTH-Konzentration relevant sein, um einen Hypokortisolismus, der durch Überdosierung entstanden ist, festzustellen (GALAC et al., 2010).

Bei 63 Patienten mit PDH wurde die ACTH-Konzentration unter Therapie untersucht. Die mediane basale Plasma-ACTH-Konzentration lag bei gut eingestellten Patienten (n = 60) (s. Tbl. 1) bei 39 Pikomol pro Liter (pmol/l) (7 – 132 pmol/l) und war signifikant höher als vor Therapiebeginn mit Trilostan (13 pmol/l; 2 – 102 pmol/l) (GALAC et al., 2010).

In der Studie von Galac konnte bei einigen Patienten (5/63) die basale Plasma-ACTH-Konzentration zum Zeitpunkt eines Hypokortisolismus gemessen werden. Diese reichte von 212 – 307 pmol/l (median 271 pmol/l) und war damit sehr viel höher als die höchste ACTH-Konzentration bei gut eingestellten Patienten. Dies weist darauf hin, dass die basale Plasma-ACTH-Konzentration in der Therapiebewertung bei Patienten mit PDH wertvoll sein könnte (GALAC et al., 2010). Die Messung von endogenem ACTH ist nicht weitläufig verfügbar und zudem ist endogenes ACTH bei Lagerung und Transport nicht stabil, was den Nutzen dieses Hormons als Screeningparameter sehr einschränkt (MELIAN et al., 2005).

In einer aktuellen Studie wurde untersucht, ob die Bestimmung der ACTH-Konzentration sowie die Bestimmung des Kortisol-ACTH-Quotienten im Vergleich zur ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration (s. Tbl. 1) zur Therapiebewertung geeignet sei. Es konnte weder eine Korrelation der ACTH-Konzentration mit der Basis-Kortisol-Konzentration noch mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration festgestellt werden (BURKHARDT et al., 2013).

#### **2.1.5. Schilddrüsenhormone**

Chronischer Hyperkortisolismus unterdrückt die Thyreotropin (TSH)-Sekretion der Hypophyse (TORRES et al., 1991; RODRIGUEZ et al., 1996; MEIJ et al.,

1997). Bei Ratten wird durch GK die periphere Dejodierung von Thyroxin (T4) zu Trijodthyronin (T3) herabgesetzt (CAVALIERI et al., 1984). Dieser Mechanismus könnte auch bei Hunden wirksam sein (PETERSON et al., 1984). Des Weiteren könnte Hyperkortisolismus die Bindung der Schilddrüsenhormone an die Plasmaproteine beeinflussen (PETERSON et al., 1984). Auch eine reduzierte Sekretion und eine gesteigerte Verstoffwechselung der Schilddrüsenhormone kommt als Mechanismus für die niedrigen Konzentrationen an Schilddrüsenhormonen in Betracht (FERGUSON & PETERSON, 1992). Dieses Phänomen wird als non-thyroidal illness oder euthyroid sick syndrome bezeichnet und tritt auch bei anderen chronischen Erkrankungen auf. Die Konzentrationen von T4 und freiem Thyroxin (fT4) sind häufig bei Patienten mit HAC reduziert (PETERSON et al., 1984; NELSON et al., 1991; FERGUSON & PETERSON, 1992; RUPPERT & KRAFT, 1999). Eine Reduktion der T3-Konzentration wurde in manchen Studien (PETERSON et al., 1984; FERGUSON & PETERSON, 1992) bei unbehandelten HAC-Patienten beschrieben, während in andere Studien (NELSON et al., 1991; RUPPERT & KRAFT, 1999) die T3-Konzentration im Referenzbereich lag.

Eine neuere Studie untersuchte bei 20 Hunden mit HAC die Konzentrationen der Schilddrüsenhormone vor und nach Therapie mit Trilostan (s. Tbl.1). Vor Therapiebeginn wiesen vier von 20 Hunden T4-Werte unterhalb des Referenzbereichs auf, während die übrigen Hunde normale T4-Konzentrationen hatten. Die T4-Konzentrationen stiegen bei 14 Hunden unter Therapie mit Trilostan an. Dieser Anstieg war allerdings nicht statistisch signifikant. Vor Therapiebeginn zeigten 18 von 20 Hunden canine TSH (cTSH)-Konzentrationen innerhalb und zwei Konzentrationen oberhalb des Referenzbereichs. Unter Therapie mit Trilostan kam es zu einem signifikanten Anstieg der cTSH-Konzentration. Allerdings lagen T4- und cTSH-Konzentrationen bereits vor Therapiebeginn bei den meisten Patienten im Referenzbereich. Da allerdings 70 % der Patienten einen Anstieg zeigten, ist anzunehmen, dass zumindest ein Teil der Patienten eine supprimierte cTSH-Konzentration vor Therapiebeginn aufwies. Keiner der beiden Hunde mit cTSH-Konzentrationen oberhalb des Referenzbereiches hatte niedrige T4-Konzentrationen. Vor Behandlungsbeginn hatten zehn von 18 Hunden fT4-Konzentrationen innerhalb, sechs von 18 Hunden oberhalb und zwei von 18 Hunden unterhalb des Referenzbereiches. Unter

Therapie mit Trilostan zeigten elf Hunde einen Abfall und vier Hunde einen Anstieg der fT4-Konzentration, während bei drei Hunden keine Veränderung auftrat. Statistisch lag somit ein signifikanter Abfall der fT4-Konzentration vor. Keiner der Hunde mit niedrigen T4- oder fT4-Konzentrationen hatte gleichzeitig erhöhte cTSH-Werte und keiner der Hunde mit erhöhter fT4-Konzentration zeigte klinische Anzeichen einer Thyrotoxikose. Die fT4-Konzentration sank unter Therapie mit Trilostan (KENEFICK & NEIGER, 2008).

Unter Therapie mit Mitotane wurde ein signifikanter Anstieg der fT4-Konzentration festgestellt (RUPPERT & KRAFT, 1999). Eventuell kann diese Diskrepanz zur zuvor genannten Studie hierdurch erklärt werden, dass Trilostan eine Wirkung auf den Metabolismus oder die Produktion von fT4 hat und somit zu einem Abfall führt (KENEFICK & NEIGER, 2008). Allerdings wurden bei klinisch gesunden Hunden signifikante tageszeitliche Schwankungen der T4-Konzentrationen beschrieben (KEMPPAINEN & SARTIN, 1984) und es ist wahrscheinlich, dass bei der fT4-Konzentration ähnliche Schwankungen vorliegen (KENEFICK & NEIGER, 2008).

Die Diskrepanz der Studien kann auch dadurch erklärt werden, dass verschiedene Messmethoden in den Untersuchungen verwendet wurden. Eine Equilibriumsdialyse, wie sie in der Studie von Kenefick und Neiger (KENEFICK & NEIGER, 2008) verwendet wurde, ist dem in der früheren Studie angewandten enzymgebundenen Immunoabsorptionstest (RUPPERT & KRAFT, 1999) zur Bestimmung der fT4-Konzentration aufgrund der besseren Genauigkeit vorzuziehen (SCHACHTER et al., 2004).

#### **2.1.6. Parathormon**

Da Kortisol zu einer Reduktion der renalen Phosphatreabsorption führt (FINDLING et al., 1982), wäre eine Erhöhung der Phosphatkonzentration bei HAC-Patienten nicht zu erwarten (TEBB et al., 2005). Die Phosphatkonzentration ist aber oft erhöht oder liegt im oberen Abschnitt des Referenzbereichs (RAMSEY et al., 2005; TEBB et al., 2005). GK führen auch zu einem Anstieg der Calciumexkretion über die Niere. Der Mechanismus ist bislang nicht bekannt (CZEKALSKI et al., 1982; FINDLING et al., 1982). Es wurde gezeigt, dass Hunde mit HAC normale Konzentrationen von Gesamtcalcium und ionisiertem Calcium aufweisen (RAMSEY et al., 2005; TEBB et al., 2005), obwohl HAC-

Patienten viele klinische Symptome zeigen, die durch Störungen im Calciumstoffwechsel (zum Beispiel (z. B.) Calcinosis cutis) hervorgerufen werden. Die pathophysiologischen Vorgänge dieser Störung sind bislang nicht bekannt (RAMSEY et al., 2005).

Hunden mit HAC weisen eine erhöhte Konzentration an Parathormon (PTH) auf und leiden somit unter einem sekundären Hyperparathyreoidismus, wobei die genaue Pathophysiologie nicht geklärt ist (RAMSEY & HERRTAGE, 2001; RAMSEY et al., 2005; TEBB et al., 2005). Allerdings konnte in einer Studie bei 50 % der Hunde (10/20) aus der Kontrollgruppe, die bezüglich Alter und Körpergewicht der Studienpopulation entsprachen, vorberichtlich keine GK erhielten oder Hinweise auf Nierenerkrankungen oder HAC zeigten, ebenfalls eine erhöhte PTH-Konzentration festgestellt werden. (TEBB et al., 2005). Für erhöhte PTH-Konzentrationen bei HAC-Patienten kommen verschiedene Gründe in Frage. Der calciumexkretorische Einfluss von Kortisol könnte kompensatorisch zu einem Anstieg der PTH-Konzentration führen (FUCIK et al., 1975). Außerdem könnte eine Hyperphosphatämie ebenfalls die PTH-Sekretion stimulieren (RODRIGUEZ et al., 1996). Das Absinken der Konzentrationen von PTH und Phosphat sowie der Anstieg der Calcium-Konzentration nach erfolgreicher Behandlung spricht dafür, dass die PTH-Konzentration kompensatorisch bei HAC-Patienten infolge eines erhöhten Calciumverlustes und/oder einer erhöhten Phosphatkonzentration ansteigt (TEBB et al., 2005). Die Höhe der PTH-Konzentrationen der Hunde mit HAC variierte stark (TEBB et al., 2005).

Nach Behandlung mit Trilostan (s. Tbl. 1) konnte ein signifikanter Abfall der PTH-Konzentration festgestellt werden. Bei 15 Hunden lag die PTH-Konzentration allerdings weiterhin oberhalb des Referenzbereichs. Es war kein statistischer Unterschied zwischen den PTH-Konzentrationen der therapierten Hunde und denen der Kontrollgruppe mehr vorhanden. Es konnte ein signifikanter Anstieg des Gesamtcalciums und ein signifikanter Abfall der Phosphatkonzentration bei Hunden mit HAC verzeichnet werden (TEBB et al., 2005). Aufgrund dieser Erkenntnisse kann die Messung der PTH-Konzentration bei Hunden mit HAC nicht zur Therapieeinstellung herangezogen werden (RAMSEY et al., 2005).



### **2.1.7. Plasma-Aldosteron-Konzentration**

Studien, die sich mit der Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) bei Patienten mit HAC beschäftigen, ergeben widersprüchliche Ergebnisse. Einerseits konnte bei Patienten mit PDH eine niedrigere PAC festgestellt werden als bei gesunden Hunden (GOLDEN & LOTHROP, 1988; GOY-THOLLOT et al., 2002; JAVADI et al., 2003; GALAC et al., 2010). Der Pathomechanismus hierfür ist unklar (QUINN & WILLIAMS, 1992). Andererseits wurde berichtet, dass bei Hunden mit PDH eine höhere PAC als bei gesunden Hunden vorliegt (ORTEGA et al., 1995; WENGER et al., 2004). Ein stimulierender Effekt von ACTH könnte bei Letzterem eine Rolle spielen. Eine Erklärung für diese widersprüchlichen Ergebnisse konnte nicht gefunden werden (WENGER et al., 2004).

Betrachtet man die PAC nach Stimulation mit synthetischem ACTH ergibt sich bei unbehandelten Patienten im Vergleich zu gesunden Hunden ein ebenso widersprüchliches Bild. So ist je nach Studie bei unbehandelten Patienten eine signifikant niedrigere (GOY-THOLLOT et al., 2002), eine höhere (WENGER et al., 2004) und eine ähnliche (GOLDEN & LOTHROP, 1988) stimulierte PAC beschrieben.

Es gibt drei veterinärmedizinische Studien, in denen die Auswirkung von Trilostan auf die PAC untersucht wurde. In einer dieser Studien (n = 15) wurde unter Therapie ein Anstieg der basalen PAC beobachtet (SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006). In einer anderen Studie wurde bei 21 Patienten die mediane PAC bei optimaler Einstellung (s. Tbl. 1) gemessen. Diese (40 pmol/l; 10 – 110 pmol/l) unterschied sich nicht signifikant von den Werten vor Therapiebeginn (50 pmol/l; 20 – 160 pmol/l) (GALAC et al., 2010). Auch in der dritten Studie (n = 17) konnte während der gesamten Studiendauer keine signifikante Veränderung der PAC festgestellt werden (WENGER et al., 2004). Trilostan scheint somit keine Auswirkung auf die basale (vor Stimulation mit ACTH) PAC zu haben (WENGER et al., 2004; GALAC et al., 2010). Es konnte lediglich ein signifikanter Abfall der ACTH-stimulierten PAC unter Therapie mit Trilostan verzeichnet werden (WENGER et al., 2004; SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006). Hieraus wurde geschlussfolgert, dass bei Hunden unter Therapie die Zona glomerulosa fähig ist, eine physiologische basale PAC aufrecht zu erhalten (WENGER et al., 2004).

In den ersten Wochen nach Therapiebeginn mit Trilostan stieg die mediane

Kaliumkonzentration an. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Kalium-Konzentration sowie eine Korrelation zwischen Kalium und Aldosteron konnte im Verlauf der Therapie jedoch nicht festgestellt werden (WENGER et al., 2004).

#### **2.1.8. Plasma-Renin-Aktivität**

Es besteht kein Unterschied der Plasma-Renin-Aktivität (PRA) bei Patienten mit HAC vor Behandlungsbeginn im Unterschied zu gesunden Hunden (JAVADI et al., 2003; JAVADI et al., 2006).

Nach Beginn der Behandlung mit Trilostan war bei gut eingestellten HAC-Patienten (s. Tbl. 1) die mediane PRA-Konzentration (265 Femtomol pro Liter pro Sekunde (fmol/l/s); 70 – 3280 fmol/l/s; n = 18) signifikant höher als vor Behandlung (115 fmol/l/s; 15 – 1330 fmol/l/s) (GALAC et al., 2010).

Die höhere PRA unter Therapie kann durch einen Abfall der PAC durch Trilostan erklärt werden. Dieser führt zu einem geringeren zirkulierenden Volumen aufgrund einer herabgesetzten Aldosteron-medierten renalen Reabsorption von Natrium. Das verminderte zirkulierende Volumen stimuliert die Renin-Sekretion (GALAC et al., 2010).

Um Abnormalitäten im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System festzustellen, ist beim Hund der PAC-PRA-Quotient als sensitiver Screeningtest beschrieben (JAVADI et al., 2003). PRA und PRA-PAC-Quotient geben mehr Aufschluss über einen Mangel an Mineralokortikoiden als die PAC alleine, da das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System in seiner Gesamtheit untersucht wird (GALAC et al., 2010).

In der Literatur finden sich nur wenige Informationen über den PAC-PRA-Quotienten. Der mediane PAC-PRA-Quotient war bei optimaler Einstellung (0,16; 0,003 – 0,92; n = 17) signifikant niedriger als vor Behandlung (median 0,44; 0,04 – 1,33). Dies kann durch einen Abfall der Aldosteron-Sekretion erklärt werden, der durch Trilostan induziert wird. Hieraus resultiert eine verringerte renale Natrium-Reabsorption und somit eine Verminderung des zirkulierenden Volumens (GALAC et al., 2010).

#### **2.2. Laborparameter**

In klinischen Studien wurde bereits die Entwicklung von Laborparametern unter Trilostan-Therapie betrachtet. Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser

klinischen Studien zusammengefasst.

### **2.2.1. Alkalische-Phosphatase-Aktivität**

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP) ist bei Hunden mit HAC in der Regel erhöht (LING et al., 1979). Eine signifikante Reduktion der AP-Aktivität kann unter Trilostan-Therapie verzeichnet werden (RUCKSTUHL et al., 2002; TEBB et al., 2005; ALENZA et al., 2006; ARTEAGA et al., 2010).

Die Werte verbleiben allerdings meist oberhalb des Referenzbereichs (ARTEAGA et al., 2010). Die kurze Wirkungsdauer von Trilostan, eine enzymatische Induktion aufgrund der Akkumulation von Kortisol-Vorläufern oder das Vorhandensein anderer Krankheitsprozesse könnten diesen Befund erklären (DUNN et al., 1995; SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006).

Verglichen mit dem ACTH-Stimulationstest, der bislang als Einstellungskriterium für Patienten mit HAC unter Therapie mit Trilostan (s. Tbl. 1) herangezogen wird (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; COOK & BOND, 2010), liefert die Bestimmung der AP-Aktivität keine zusätzlichen Informationen, was sich durch die meist ausbleibende Normalisierung unter Therapie erklärt. Daher kann die Bestimmung der AP-Aktivität nicht zur Therapiebewertung empfohlen werden (ARTEAGA et al., 2010).

Bei den meisten Hunden mit HAC ist die Aktivität der steroid-induzierten Isoform der AP (SIAP) für 70 – 90 % der totalen AP-Aktivität verantwortlich (WILSON & FELDMAN, 1992). In einigen Studien wurde bereits untersucht, ob die SIAP als Screeningtest zur Diagnose von HAC genutzt werden kann (TESKE et al., 1989; WILSON & FELDMAN, 1992; SOLTER et al., 1993). Zwar lagen die Werte der SIAP bei Hunden mit HAC und exogener GK-Zufuhr höher als bei Hunden mit Diabetes mellitus oder Lebererkrankungen, eine Erhöhung wurde aber bei Patienten aus allen Gruppen nachgewiesen. Die Erhöhung der SIAP kann somit als sensitiv, aber nicht spezifisch angesehen werden (Sensitivität 95 %, Spezifität 18 %) (WILSON & FELDMAN, 1992). Die SIAP wurde noch nicht auf ihre Tauglichkeit als Therapiemarker bei der Trilostan-Therapie von HAC-Patienten untersucht.

### **2.2.2. Konzentration der Blutfette**

Die Cholesterol-Konzentration ist bei 90 % der Patienten mit HAC erhöht (LING

et al., 1979). GK stimulieren die Lipolyse und führen somit zu einem Anstieg der Cholesterol-Konzentration (FELDMAN & NELSON, 2004). Unter Therapie mit Trilostan sinkt die Cholesterol-Konzentration signifikant (RUCKSTUHL et al., 2002; ALENZA et al., 2006). Dies kann möglicherweise auf eine Wiederherstellung eines physiologischen Lipid-Stoffwechsels durch die Verminderung der Kortisol-Konzentration zurückgeführt werden (ARTEAGA et al., 2010).

Bei manchen Patienten fallen die Werte jedoch nicht unter Therapie. Der Effekt der Akkumulation von endogenem ACTH und Kortisol-Vorläufern auf Cholesterol ist unbekannt (RUCKSTUHL et al., 2002), könnte aber die auch unter Therapie bestehende Erhöhung bei manchen Studienpatienten erklären (ARTEAGA et al., 2010). Die Bestimmung der Cholesterol-Konzentration stellt laut aktuellen Studien im Vergleich mit dem ACTH-Stimulationstest keinen guten Therapiemarker dar (ARTEAGA et al., 2010).

Die Konzentration der Triglyceride wurde bislang unter Therapie mit Trilostan noch nicht untersucht.

### **2.2.3. Akute-Phase-Proteine**

Hunde mit HAC weisen in der Regel erhöhte Haptoglobin (Hp)-Konzentrationen auf, auch wenn diese nicht die gleichen Werte erreichen wie bei Hunden, die exogene GK erhalten (MCGROTTY et al., 2003). Der Mechanismus, durch den Kortisol und exogene GK bei Hunden die Hp-Synthese induzieren, ist noch unbekannt (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2004; MCGROTTY et al., 2005).

Es wurde bereits gezeigt, dass die Hp-Konzentration bei einer Vielzahl von Krankheitsbildern, wie zum Beispiel bei Diabetes mellitus, Neoplasien oder immunmedierten Erkrankungen, erhöht ist, da entzündliche Veränderungen vorliegen (MCGROTTY et al., 2003). So könnte auch der Anstieg von Akute-Phase-Proteine bei HAC-Patienten auf einer Entzündungsreaktion oder einem direkten GK-Effekt beruhen. Außerdem liegen bei vielen Hunden sekundäre dermatologische Veränderungen vor, die ebenfalls die Akute-Phase-Reaktion stimulieren können. Es ist somit fraglich, ob die Erhöhung der Hp-Konzentration allein auf die Kortisol-Ausschüttung zurückgeführt werden kann (MCGROTTY et al., 2005).

Die Entwicklung der Hp-Konzentration unter Therapie mit Trilostan wurde in

verschiedenen Studien untersucht (n = 12 (MCGROTTY et al., 2005); n = 11 (ARTEAGA et al., 2010)). Verglichen mit den Werten vor Therapiebeginn sank die Hp-Konzentration unter Trilostan-Therapie signifikant ab. Allerdings lagen meist die Hp-Konzentrationen sowohl bei unbehandelten als auch bei behandelten Patienten, auch wenn eine Stabilisierung des HAC (s. Tbl. 1) erreicht wurde, oberhalb des Referenzbereichs (MCGROTTY et al., 2005; ARTEAGA et al., 2010). Möglicherweise blieben die Hp-Konzentrationen aufgrund der Wirkungsdauer von Trilostan, die oft unter 24 Stunden liegt (BRADDOCK et al., 2003; BELL et al., 2006), erhöht (MCGROTTY et al., 2005). Eventuell führen auch sekundäre Veränderungen, wie dermatologische Probleme, zu einer Beeinflussung der Hp-Produktion (MCGROTTY et al., 2005).

Bei zwei Hunden einer Studie stieg die Hp-Konzentration unter Therapie an (MCGROTTY et al., 2005). Unter Therapie mit Trilostan tritt eine Erhöhung der endogenen ACTH-Konzentration und der Kortisol-Vorläufer auf (WITT & NEIGER, 2004; SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006). Es ist nicht bekannt, ob endogenes ACTH oder Kortisol-Vorläufer die Hp-Synthese stimulieren können, jedoch würde dies den Anstieg bei diesen beiden Hunden erklären. Es ist somit ungeklärt, ob die Ursache dafür, dass die Hp-Konzentration unter Therapie nicht wieder in den Referenzbereich gelangt, an der Bildung von Kortisol-Vorläufern, sekundären Effekten des HAC, der relativ kurzen Halbwertszeit von Trilostan oder einer nicht adäquaten Kontrolle des Krankheitsbildes liegt (MCGROTTY et al., 2005).

Weitere Akute Phase Proteine sind C-reaktives Protein (CRP) und Serum-Amyloid A (SAA). Bei gesunden Hunden (n = 21) konnte nach Verabreichung exogener GK kein Effekt auf die Konzentrationen von CRP und SAA festgestellt werden (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2004).

In einer Studie mit elf HAC-Patienten war vor Therapiebeginn die Konzentration an CRP bei nur einem Patienten und die Konzentration von SAA bei nur zwei Patienten erhöht. Nach Einstellung der Krankheit (s. Tbl. 1) war die CRP-Konzentration bei zwei und die SAA-Konzentration bei einem Patienten erhöht. Es lag eine statistisch signifikante Reduktion der SAA-Konzentration vor, die aber mit Vorsicht interpretiert werden muss, da die meisten Hunde SAA-Werte im Referenzbereich vor und nach Therapie aufwiesen. Bei der CRP-Konzentration konnte kein statistisch signifikanter Unterschied vor und nach Therapie

festgestellt werden (ARTEAGA et al., 2010). Die Erhöhung der CRP-Konzentration, die unter Therapie bei einem Patienten auftrat (ARTEAGA et al., 2010), kann mit einer Begleiterkrankung oder einer Entzündungsreaktion assoziiert gewesen sein (KOBELT et al., 2003; CERON et al., 2005; TECLES et al., 2005; CALDIN et al., 2009).

Verglichen mit dem ACTH-Stimulationstest, der bislang als Einstellungskriterium herangezogen wird, liefert die Bestimmung der Hp-Konzentration sowie deren Kombination mit der Cholesterol-Konzentration und AP-Aktivität hinsichtlich der Therapieeinstellung von Patienten mit HAC nur moderate Informationen. Die Bestimmung der Konzentrationen von Hp, CRP und SAA wurden aufgrund der variablen Ergebnisse nicht zur Therapiebewertung empfohlen. Die Hp-, SAA- und CRP-Konzentrationen wurden bisher allerdings nur zu einem bestimmten Therapiezeitpunkt untersucht. Es gibt keine Studien zu deren Entwicklung über einen längeren Zeitraum (ARTEAGA et al., 2010).

Zu weiteren Akute-Phase-Proteinen wie  $\alpha$ 1-Säure-Glykoprotein, Ceruloplasmin und  $\alpha$ 1-Antitrypsin gibt es bei Hunden mit HAC keine Untersuchungen zur Entwicklung unter Therapie (ARTEAGA et al., 2010).

#### **2.2.4. Urin-spezifisches Gewicht**

Das Urin-spezifische Gewicht (USG) ist bei Patienten mit HAC typischerweise erniedrigt (LING et al., 1979; ALENZA et al., 2006), da Kortisol durch eine Interferenz mit den ADH-Rezeptoren eine Polyurie hervorruft und somit zu einem sekundären renalem Diabetes insipidus führt (FELDMAN & NELSON, 2004). Unter Therapie mit Trilostan steigt das USG an. Vor Therapiebeginn konnte eine Spanne von 1.005 bis 1.029 (median 1.011) festgestellt werden, während bei der fünften Kontrolluntersuchung (24 bis 28 Wochen unter Therapie mit Trilostan) das USG von 1.010 bis 1.043 (median 1.024) reichte. Dieser Anstieg war signifikant. Bei vier (von elf) Hunden blieb das USG allerdings unter 1.020. (RUCKSTUHL et al., 2002). Das USG wurde noch nicht als Therapiemarker evaluiert.

#### **2.2.5. Urin-Protein-Kreatinin-Quotient**

Sieht man einen Urin-Protein-Kreatinin-Quotienten (UPC) von über 0,5 als erhöht an, so liegt bei 68 bis 71 % der Hunde mit unbehandeltem HAC ein erhöhter UPC vor (MAZZI et al., 2008; SMETS et al., 2012a). Allerdings wird in der

Klassifizierung der International-Renal-Interest-Society bei nicht-azotämischen Hunden erst ein UPC von über 1,0 als erhöht gewertet (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2014). Viele Hunde mit HAC weisen erhöhte Blutdruckwerte auf (DANESE & ARON, 1994; GOY-THOLLOT et al., 2002). Eine systemische Hypertension führt zu einem erhöhten kapillären hydrostatischen Druck, der eine Hyperfiltration hervorruft und eventuell eine Proteinurie und Glomerulosklerose bedingen kann (ORTEGA et al., 1996). Eine Korrelation zwischen Blutdruck und Schweregrad der Proteinurie wurde bei Hunden mit spontanem oder iatrogenem HAC gezeigt (ORTEGA et al., 1996; SCHELLENBERG et al., 2008). Allerdings besteht teilweise auch bei normotensiven HAC-Patienten eine Erhöhung des UPC. Es ist somit davon auszugehen, dass die Proteinurie bei Patienten mit HAC nicht allein durch einen erhöhten Blutdruck hervorgerufen wird (MAZZI et al., 2008). Eine Studie gibt an, dass bei klinisch gesunden Hunden, die GK in immunsuppressiven Dosen erhielten, histologisch die Entwicklung glomerulärer Läsionen und einer Proteinurie vorhanden waren (WATERS et al., 1997). Ein GK-Überschuss führt in der Niere zu einer initial transient erhöhten glomerulären Filtrationsrate und zu einer erhöhten Membran-Permeabilität. Möglicherweise resultiert sogar ein permanenter glomerulärer Schaden, wobei die Pathogenese bislang nicht vollständig bekannt ist (BAYLIS & BRENNER, 1978; CENTER et al., 1987). Über den Urin werden Proteine mit hohem molekularen Gewicht (z. B. Immunglobulin G (IgG)), intermediärem molekularen Gewicht (z. B. Albumin), niedrigem molekularen Gewicht (z. B. Retinol-bindendes Protein (RBP)) sowie Enzyme (z. B. N-Acetyl- $\beta$ -D-Glukosaminidase (NAG)) ausgeschieden, die als Marker gemessen werden können. Eine glomeruläre Dysfunktion verursacht eine erhöhte Filtration von IgG und Albumin, während eine tubuläre Dysfunktion eine erhöhte Ausscheidung von RBP und NAG über den Urin bedingt (EMEIGH HART, 2005). Der Urin-Albumin-Kreatinin Quotient, der Urin-IgG-Kreatinin-Quotient, der Urin-RBP-Kreatinin-Quotient und der Urin-NAG-Kreatinin-Quotient waren bei unbehandelten Hunden mit ACTH-abhängigem und ACTH-unabhängigem HAC erhöht verglichen mit gesunden Kontrolltieren (SMETS et al., 2012b). Somit liegt neben einer glomerulären Schädigung auch eine tubuläre Schädigung vor.

Der UPC sinkt genauso wie der Urin-Albumin-Kreatinin-Quotient, der Urin-RBP-

Kreatinin-Quotient und der Urin-IgG-Kreatinin-Quotient unter Therapie signifikant ab. Allerdings bleibt auch nach zwölf Monaten Therapie eine Proteinurie bei 38 % (5/13) der Hunde bestehen (SMETS et al., 2012a). Dass die Proteinurie trotz erfolgreicher Therapie des HAC bestehen bleiben kann, wurde auch in anderen Studien gezeigt, wobei die Patienten hier mit Mitotane behandelt wurden (HURLEY & VADEN, 1998; GOY-THOLLOT et al., 2002). Diese Ergebnisse erhärten den Verdacht auf eine permanente glomeruläre Schädigung.



**Tabelle 1: Übersicht klinischer Studien, in denen Patienten mit HAC unter Therapie mit Trilostan untersucht wurden. Es wird jeweils die Ziel-Kortisol-Konzentrationen nach ACTH-Stimulation aufgeführt, die in der jeweiligen Studie eine optimale Therapieeinstellung wiedergeben sollte. Ebenfalls wird aufgeführt, ob klinische Parameter in die Therapiebewertung eingeschlossen wurden und wie der ACTH-Stimulationstest durchgeführt wurde. (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, CRP = C-reaktives Protein, HAC = Hyperadrenokortizismus, Hp = Haptoglobin, i. v. = intravenös, k. A. = keine Angabe, PDH = hypophysenabhängiger Hyperadrenokortizismus, PTH = Parathormon, SAA = Serum-Amyloid A, UCC = Urin-Kortisol-Kreatinin-Quotient)**

Autoren	Studienziel	Ziel-Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation	Einschluss klinischer Parameter in die Therapiebewertung	Zeitpunkt der Durchführung des ACTH-Stimulationstests	Injektion von synthetischem ACTH	Zeitpunkt der Messung der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration nach ACTH-Injektion
(NEIGER et al., 2002)	Bestimmung der Wirksamkeit von Trilostan bei Hunden mit PDH	20 – 250 nmol/l (0,7 – 9,0 µg/dl)	subjektiv	k. A.	k. A.	k. A.
(RUCKSTUHL et al., 2002)	Bestimmung der Wirksamkeit von Trilostan bei Hunden mit PDH	28 – 69 nmol/l (1,0 – 2,5 µg/dl)	Fragebogen	2 – 6 Stunden	0,25 Milligramm (mg) i. m.	60 Minuten
(BRADDOCK et al., 2003)	Evaluierung der Wirksamkeit von Trilostan bei der Behandlung von Hunden mit PDH	15 – 250 nmol/l (0,5 – 9,0 µg/dl)  ≤ 15 nmol/l (≤ 0,5 µg/dl) exzessive Suppression 25-75 nmol/l (0,9 – 2,7 µg/dl) enge Einstellung 75-250 nmol/l (2,7 – 9,0 µg/dl) akzeptable Kontrolle	Fragebogen	Innerhalb 12 Stunden (typischerweise innerhalb 6 Stunden)	5 µg/kg i. v.	60 Minuten

(WENGER et al., 2004)	Auswirkung von Trilostan auf die Aldosteron-, Kortisol- und Kaliumkonzentration bei Hunden mit PDH; Vergleich des Abfalls der Aldosteron- mit der Kortisol-Konzentration und Vergleich der Aldosteron-Konzentration von gesunden Hunden und Hunden mit PDH	28 – 69 nmol/l (1,0 – 2,5 µg/dl)	k. A.		2 – 6 Stunden	0,25 mg ACTH i. m.	60 Minuten
(MCGROTTY et al., 2005)	Bestimmung der Hp-Konzentrationen bei Hunden mit HAC zum Zeitpunkt der Diagnose und unter Therapie mit Trilostan	< 150 nmol/l (< 5,4 µg/dl)	subjektiv		4 – 6 Stunden	< 5 kg 125 µg i.v. > 5 kg: 250 µg i.v.	60 Minuten
(TEBB et al., 2005)	Bestimmung des Einflusses der Behandlung von HAC auf die PTH-, Kalzium- und Phosphat-Konzentration	< 200 nmol/l (< 7,2 µg/dl)	subjektiv		k. A.	k. A.	k. A.
(ALENZA et al., 2006)	Evaluierung der Wirksamkeit, der Toxizität und des Langzeittherapieerfolgs bei zweimal täglicher Trilostan-Gabe bei Hunden mit PDH	28 – 138 nmol/l (1,0 – 5,0 µg/dl) (erste Kontrolle) 28 – 248 nmol/l (1,0 – 9,0 µg/dl) (jede weitere Kontrolle)	subjektiv		4 – 6 Stunden (erste Kontrolle) 8 – 12 Stunden (jede weitere Kontrolle)	5 µg/kg i. v.	60 Minuten
(SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2006)	Evaluierung der Wirkung von Trilostan auf Kortisol-, Aldosteron- und endogene ACTH-Konzentration bei Hunden mit PDH	28 – 69 nmol/l (1,0 – 2,5 µg/dl)	k. A.		2 – 6 Stunden	0,25mg i. m.	60 Minuten
(KENEFICK & NEIGER, 2008)	Evaluierung der Wirkung von Trilostan auf Schilddrüsenhormon-Konzentrationen bei Hunden mit PDH	≤ 200 nmol/l (≤ 7,2 µg/dl)	subjektiv		4 – 6 Stunden	k. A.	k. A.

(VAUGHAN et al., 2008)	Evaluierung der Wirkung einer zweimal täglichen niedrig dosierten Trilostan-Behandlung und Beurteilung der Wirkungsdauer nach einmal täglicher Trilostan-Gabe bei Hunden mit HAC	41 – 152 nmol/l (1,5 – 5,5 µg/dl)	Einstufung in 3 Grade (gutes Ansprechen, kein Ansprechen, schlechtes Allgemeinbefinden)	3 – 4 Stunden	0,25 mg i. m.	60 Minuten
(GALAC et al., 2009)	Evaluierung des UCC als Alternative zum ACTH Stimulationstest zur Bestimmung der optimalen Trilostan-Dosis bei Hunden mit PDH	28 - 165 nmol/l (1,0 – 6,0 µg/dl)	subjektiv	2 – 4 Stunden	0,25 mg i. v.	90 Minuten
(ARTEAGA et al., 2010)	Beurteilung ob die Kontrolle von HAC die Konzentrationen an Hp, CRP, SAA, AP und Cholesterol beeinflusst und ob diese Parameter zur Bewertung der Trilostan-Therapie herangezogen werden können	< 150 nmol/l (< 5,4 µg/dl)	k. A.	4 – 6 Stunden	i. v. k. A.	k. A.
(COOK & BOND, 2010)	Evaluierung der Basal-Kortisol-Konzentration zur Therapiebewertung bei Hunden mit HAC unter Trilostan-Therapie	41 – 251 nmol/l (1,5 – 9,1 µg/dl)	Clinical trial guidelines der US FDA; Protokoll zur Wirksamkeit	4 – 6 Stunden	< 5 kg: 0,125 mg i. v. ≥ 0,25 mg i.v.	60 Minuten
(GALAC et al., 2010)	Auswirkung von Trilostan auf die Hypophysen-Nebennierenrinden- und Renin-Aldosteron-Achse bei Hunden mit PDH	10 nmol/l (0,4 µg/dl) bzw. 30 – 190 nmol/l (1,1 – 6,9 µg/dl)	subjektiv	2 – 4 Stunden	0,25 mg i. v.	90 Minuten
(AUGUSTO et al., 2012)	Vergleich der einmal- und zweimaltäglichen Gabe von Trilostan bei Hunden mit HAC	40 – 120 nmol/l (1,4 – 4,3 µg/dl)	Fragebogen	2 – 6 Stunden	k. A.	k. A.

(SMETS et al., 2012a)	Evaluierung der Langzeitauswirkungen der Behandlung von HAC auf die Nierenfunktion bei Hunden	40 – 150 nmol/l (1,4 – 5,4 µg/dl)	subjektiv	k. A.	k. A.	k. A.
(BURKHARDT et al., 2013)	Evaluierung der Basal-Kortisol- und endogenen ACTH-Konzentration sowie des Kortisol-ACTH-Quotients zur Beurteilung der Trilostan-Therapie bei Hunden mit PDH	< 41 nmol/l (< 1,5 µg/dl) exzessive Suppression 41 – 149 nmol/l (1,5 – 5,4 µg/dl) adäquate Einstellung > 149 nmol/l (> 5,4 µg/dl) inadäquate Einstellung	subjektiv	2 – 3 Stunden	0,25 mg i. v.	60 Minuten

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

Die Gestaltung des Versuchsaufbaus gliedert sich in eine Vor- und eine Hauptuntersuchung. Die Voruntersuchung setzt sich aus der Befragung von Endokrinologen und der Entwicklung eines Besitzerfragebogens zusammen, während die Hauptuntersuchung eine klinische Studie beschreibt, die auf den Ergebnissen der Voruntersuchung aufbaut.

#### **1. Voruntersuchung**

Um das Vorgehen wissenschaftlich zu fundieren, wurde zunächst eine Befragung von Endokrinologen durchgeführt und basierend auf den Ergebnissen dieser Befragung ein Fragebogen für die Besitzer erkrankter Hunde entwickelt.

##### **1.1. Befragung von Endokrinologen**

Um die Expertenmeinung von Tierärzten, die im Bereich der Kleintierendokrinologie spezialisiert sind, einzuholen, wurde ein Fragebogen (s. Anhang) gestaltet, der die Vorgehensweise bei der Therapieüberwachung von Hunden mit HAC, die mit Trilostan therapiert werden, erfasst. Insgesamt wurden 87 Endokrinologen aus USA und Europa über ihr Vorgehen bei Behandlung und Therapiebewertung von Hunden mit HAC befragt. Basierend auf einer Recherche in einer Internetdatenbank (Pubmed) wurden Endokrinologen angeschrieben, die innerhalb der letzten zehn Jahre einen Fachartikel über HAC veröffentlicht hatten oder die zum Zeitpunkt der Befragung Mitglied der European Society of Veterinary Endocrinology oder der Society for Comparative Endocrinology waren. 28 Fragebögen wurden zurückerhalten (davon 23 vollständig ausgefüllt, fünf unvollständig ausgefüllt).

Die teilnehmenden Experten wiesen ein medianes Alter von 40,5 Jahren auf und arbeiteten median seit 15 Jahren als Tierarzt. Es nahmen 57,1 % (16/28) weibliche und 28,6 % (8/28) männliche Experten an der Befragung teil. Vier Experten (14,3 %) gaben kein Geschlecht an. Die meisten der Experten (32,1 %; 9/28) arbeiteten zum Zeitpunkt der Befragung an einer Universität. Außerdem arbeiteten 7,1 % (2/28) in einer Kleintierklinik (mit 24-Stunden Notdienst) und 7,1 % (2/28) in einer Kleintierpraxis. Keiner der Experten arbeitete in einer Gemischtpraxis. Einer der Experten (3,6 %; 1/28) gab als Arbeitsstelle ein

veterinärmedizinisches Labor an. Vier Experten (14,3 %) gaben keine Arbeitsstelle an.

### 1.1.1. Beurteilung des Therapieerfolges

Eine Liste über klinische Symptome, Laborparameter und endokrine Funktionstests, die typischerweise bei Hunden mit HAC veränderte Ergebnisse aufweisen (RIJNBEEK et al., 1968; LING et al., 1979), wurde zusammengestellt. Insgesamt wurden 56 Parameter in die Kategorien Anamnese, klinische Untersuchung und Diagnostik eingeteilt. In nachfolgender Tbl. 2 sind diese aufgeführt.

**Tabelle 2: Liste der im Experten-Fragebogen enthaltenen Parameter (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, SIAP = steroid-induzierte Alkalische Phosphatase, UCC = Urin-Kreatinin-Quotient, UPC = Urin-Protein-Kreatinin-Quotient, USG = Urin-spezifisches Gewicht)**

Anamnese	Klinische Untersuchung	Diagnostik
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Besitzerzufriedenheit</li> <li>• Polydipsie</li> <li>• Polyurie</li> <li>• Polyphagie</li> <li>• Hecheln</li> <li>• Aktivität (Ausdauer)</li> <li>• Unruhe</li> <li>• Schlafstörungen</li> <li>• Juckreiz</li> <li>• Erbrechen</li> <li>• Durchfall</li> <li>• Apathie</li> <li>• Anorexie</li> <li>• Anöstrus (wenn zutreffend)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gewicht</li> <li>• subjektiver Ernährungs- zustand</li> <li>• Body-Mass-Index</li> <li>• Stammfettsucht</li> <li>• Haarkleid- veränderungen</li> <li>• Juckreiz</li> <li>• Alopezie</li> <li>• nicht nachwachsende Rasurstellen</li> <li>• dünne Haut</li> <li>• Schuppen</li> <li>• Hyperpigmentation</li> <li>• Pyodermie</li> <li>• Calcinosis cutis</li> <li>• Komedone</li> <li>• Muskelschwäche</li> <li>• Muskelatrophie</li> <li>• Hodenatrophie (wenn zutreffend)</li> <li>• Allgemeinbefinden/All- gemeinzustand</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutdruck</li> <li>• USG</li> <li>• UPC</li> <li>• Proteinurie (Urinstick)</li> <li>• Hämatokrit</li> <li>• Leukozyten</li> <li>• Thrombozyten</li> <li>• AP</li> <li>• SIAP</li> <li>• Alanin- Aminotransferase</li> <li>• Blutglukose</li> <li>• Harnstoff</li> <li>• Kreatinin</li> <li>• Cholesterol</li> <li>• Triglyceride</li> <li>• Bilirubin</li> <li>• Protein</li> <li>• Kalium</li> <li>• Natrium</li> <li>• Phosphat</li> <li>• Calcium</li> <li>• Basis-Kortisol</li> <li>• stimuliertes Kortisol (60 Minuten nach ACTH- Injektion)</li> <li>• UCC</li> </ul>

Die Experten wurden nach der Wichtigkeit der aufgeführten Parameter zur Therapiebeurteilung und zur Entscheidung, ob eine Anpassung der Trilostan-Dosis notwendig sei, befragt. Hierzu wurde für jeden Parameter eine zehnstufige Rating-Skala verwendet, die von „1 = nicht wichtig“ bis hin zu „10 = sehr wichtig“ reichte.

Zusätzlich wurden die Experten nach dem Vorgehen bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstests sowie nach den Zeitpunkten der Therapiekontrollen befragt (s. Tbl 10).

### **1.1.2. Dosierung von Trilostan**

Des Weiteren wurden die Experten befragt, wie sie bei der Dosierung des Medikaments Trilostan vorgehen. Auch hier wurden verschiedene Antwortmöglichkeiten vorgegeben (s. Tbl. 11).

## **1.2. Entwicklung eines Besitzerfragebogens**

Basierend auf der Expertenbefragung wurde ein standardisierter krankheitsbezogener Fragebogen (s. Anhang) für die Besitzer erkrankter Hunde entwickelt. Der Fragebogen wurde konzipiert, um prospektiv den aktuellen Gesundheitszustand des Patienten zu erfassen und um den Schweregrad der klinischen Symptomatik zu beurteilen.

Zum Aufbau des Fragebogens diente als Orientierung ein Fragebogen, der in der Humanmedizin bei Patienten mit HAC eingesetzt wird, um deren Lebensqualität zu erfassen (WEBB et al., 2008). Der Inhalt beruhte auf den Ergebnissen des Expertenfragebogens. Scoring-Systeme aus veterinärmedizinischen Studien für Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts (JERGENS et al., 2003; ALLENSPACH et al., 2007; JERGENS et al., 2010) wurden ebenfalls herangezogen. Zu der allgemeinen Konzeption des Fragebogens wurde Fachliteratur über die Gestaltung von Fragebögen verwendet (MOOSBURGGER & KELAVA, 2008).

Als relevante Parameter wurden beruhend auf der Expertenbefragung Polyurie, Polydipsie, Polyphagie, Besitzerzufriedenheit und weitere klinische Symptome (Erbrechen, Durchfall, Anorexie, Apathie) in den Fragebogen eingeschlossen. Für die meisten Parameter wurden Mehrfachauswahlfragen formuliert. Eine Rating-Skala wurde genutzt, um den Schweregrad der Symptomatik, die aufgrund einer erhöhten Kortisol-Konzentration entsteht, einzuschätzen. Die optimale Anzahl an Antwortmöglichkeiten liegt laut Literatur zwischen vier und sieben (LOZANO et

al., 2008) und so wurden fünf Antwortkategorien angeboten. Es gab die folgenden Antwortmöglichkeiten: „gar nicht“, „kaum“, „etwas“, „ziemlich“, „sehr“ zutreffend. Für Symptome, die auf einen Hypokortisolismus hindeuteten, wurden nur dichotome Antwortkategorien („ja“, „nein“) angeboten.

Um die klinischen Parameter statistisch auswerten zu können, wurde die fünfstufige Antwortenskala (trifft „gar nicht“, „kaum“, „etwas“, „ziemlich“, „sehr“ zu) mit eins bis fünf Punkten belegt, so dass eine hohe Punktzahl einer guten Einstellung und eine niedrige Punktzahl einer schlechten Einstellung entspricht. Tbl. 3 zeigt beispielhaft die Punkteverteilung.

**Tabelle 3: Beispiel der Punkteverteilung im Besitzerfragebogen**

Mein Hund trinkt zu viel.				
gar nicht	kaum	etwas	ziemlich	sehr
5 Punkte	4 Punkte	3 Punkte	2 Punkte	1 Punkt

Somit entspricht ein Punkt der Antwortmöglichkeit „sehr“ und fünf Punkte der Antwortmöglichkeit „gar nicht“ für die Parameter Polydipsie, Polyurie und Polyphagie. Bei Beurteilung der Besitzerzufriedenheit entspricht ein Punkt der Antwortmöglichkeit „gar nicht“ und fünf Punkte der Antwortmöglichkeit „sehr“.

Eine erste Version des Fragebogens wurde von 20 Besitzern von Hunden mit HAC, die mit Trilostan therapiert wurden, ausgefüllt. Freie Textfelder wurden eingefügt, um Kommentare zur Verständlichkeit des Fragebogens zu ermöglichen. Danach wurde der Fragebogen optimiert und eine Endversion erstellt.

## 2. Hauptuntersuchung

Die Hauptuntersuchung besteht aus einer prospektiven klinischen Studie. Im Folgenden wird deren Aufbau beschrieben.

### 2.1. Material

Insgesamt wurden 25 Hunde mit HAC in die Studie eingeschlossen. Alle wurden mit Trilostan therapiert und waren zu Therapiekontrollen vorstellig.

#### 2.1.1. Patientengut

Die Hunde waren Patienten an der Medizinischen Kleintierklinik München der Ludwig-Maximilians-Universität (n = 22) oder an der Kleintierklinik Haar (n = 3).



### 2.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Der Verdacht auf das Vorliegen eines HAC ergab sich, wenn für HAC typische Veränderungen (RIJNBEEK et al., 1968; LING et al., 1979) in der Anamnese, der klinischen Untersuchung und den Laboruntersuchungen (Hämatologie, Biochemie-Profil und Urinuntersuchung) auftraten. Die Diagnose wurde im Low-dose-Dexamethason-Suppressions-Test (LDDS-Test) nach acht Stunden durch eine fehlende Kortisol-Suppression ( $\geq 39$  nmol/l;  $\geq 1,4$  µg/dl) nach Dexamethason-Gabe (0,01 Milligramm pro Kilogramm (mg/kg)) oder einer erhöhten Kortisol-Konzentration ( $> 552$  nmol/l;  $> 20$  µg/dl) nach ACTH-Stimulation gestellt. Zusätzlich wurde eine Ultraschalluntersuchung des Abdomens durchgeführt, um die Nebennieren zu beurteilen und um zusätzliche Erkrankungen oder Komplikationen durch HAC auszuschließen. Die Unterscheidung zwischen AIHAC und ADHAC wurde auf die ultrasonographische Darstellung der Nebennieren, also auf das Vorhandensein einer uni- oder bilateralen Nebennierenvergrößerung (BENCHEKROUN et al., 2010) oder die Ergebnisse eines LDDS-Tests gestützt. Hunde, die an zusätzlichen Erkrankungen (wie Diabetes mellitus, Harnwegsinfektionen) litten oder die Medikamente (wie Diuretika, Phenobarbital, Steroide, Progesteron) erhielten, die die klinische Symptomatik beeinflusst hätten, wurden ausgeschlossen.

### 2.1.3. Signalement

Das Alter, das Geschlecht und die Rasse jedes Studienteilnehmers wurden erfasst. In Tbl. 4 werden das Alter und das Gewicht der Patienten dargestellt. Angegeben werden das Minimum (Min.) und Maximum (Max.), der Mittelwert und der Median sowie die Standardabweichung (SD) der Hunde mit HAC.

**Tabelle 4: Angabe des Alters in Jahren und des Gewichts in Kilogramm (Min. = Minimum, Max. = Maximum, SD = Standardabweichung) der 25 Hunde mit Hyperadrenokortizismus**

Parameter	Min.	Max.	Mittelwert	Median	SD
Alter	7,0	17,0	11,92	12,0	2,60
Gewicht	4,9	46,0	17,55	13,2	11,01

13 Hunde waren weiblich (zehn kastriert) und zwölf Hunde waren männlich (fünf kastriert). Tbl. 5 gibt die Rassenverteilung der Patienten wieder.

**Tabelle 5: Rasseverteilung der Studienpatienten (n = 25)**

<b>Rasse</b>	<b>Anzahl</b>	<b>%</b>
Mischling	9	36 %
Dackel	2	8 %
Jack Russel Terrier	2	8 %
Cairn Terrier	1	4 %
Tibet Terrier	1	4 %
Deutscher Schäferhund	1	4 %
Australian Shepherd	1	4 %
Rhodesian Ridgeback	1	4 %
Boxer	1	4 %
Zwergpinscher	1	4 %
Hovawart	1	4 %
West Highland White Terrier	1	4 %
Pumi	1	4 %
Shi Tzu	1	4 %
Beagle	1	4 %

#### **2.1.4. Klassifizierung**

Bei 19 Patienten lag ein ADHAC vor und bei zwei Patienten ein AIHAC. Bei zwei Hunden wurde sowohl ein ADHAC als auch ein AIHAC vermutet. Zwei Hunde konnten nicht klassifiziert werden, da die Nebennieren nicht ultrasonographisch dargestellt werden konnten. Es wurden sowohl neu-diagnostizierte (n = 13) als auch Langzeitpatienten (n = 12) in die Studie eingeschlossen. Neu-diagnostizierte Patienten erhielten bis zum Studienbeginn keine Therapie für HAC, während Langzeitpatienten eine individuell angepasste Therapie erhielten.

#### **2.2. Methoden**

Im Folgenden werden die genauen Untersuchungsmethoden beschrieben.

##### **2.2.1. Dosierung von Trilostan und Untersuchungszeitpunkte**

Bei neu-diagnostizierten Patienten wurde die Therapie mit einer niedrigen Trilostan-Dosis (1 – 2 mg/kg einmal täglich), die der Expertenmeinung entsprach,

begonnen. Anpassungen der Dosis wurden nach dem klinischen Ansprechen und den Ergebnissen eines ACTH-Stimulationstests vorgenommen.

Hunde wurden zur Therapiekontrolle nach sieben bis zehn Tagen, nach vier Wochen und alle drei Monate nach Beginn der Therapie und nach jeder Änderung der Dosis vorgestellt. Somit ergeben sich für jeden Patienten unterschiedlich viele Untersuchungszeitpunkte im Studienzeitraum. Bei den meisten Langzeit-Patienten war nur ein Untersuchungszeitpunkt vorhanden. Bei den neu-diagnostizierten Patienten waren mehrere Untersuchungszeitpunkte auswertbar. Insgesamt wurden 61 Untersuchungszeitpunkte, bestehend aus den klinischen Parametern (erfasst durch den Besitzerfragebogen), den Laborparametern und dem ACTH-Stimulationstest gesammelt und in die statistische Datenauswertung eingeschlossen. Tbl. 6 gibt wieder, wie viele Untersuchungszeitpunkte bei neu-diagnostizierten und Langzeit-Patienten durchgeführt wurden.

**Tabelle 6: Überblick über die 61 Untersuchungszeitpunkte, bestehend aus klinischen Parametern (Besitzerfragebogen), Laborparametern und ACTH-Stimulationstest**

<b>Anzahl der Untersuchungen</b>	<b>neu-diagnostizierte Patienten (n = 13)</b>	<b>Langzeit-Patienten (n = 12)</b>
1	3	10
2	4	1
3	0	0
4	2	0
5	1	1
6	1	0
7	2	0

### **2.2.2. Untersuchungen**

Im Folgenden wird das Vorgehen bei Erhebung der Anamnese, Durchführung der klinischen Untersuchung sowie den Laboruntersuchungen dargelegt.

#### **2.2.2.1. Anamnese und klinische Untersuchung**

Von jedem Patienten, der in die Studie einging, wurde eine allgemeine Anamnese erhoben. Zusätzlich füllten die Besitzer den Besitzerfragebogen (s. Anhang) aus. Bei jedem Patienten wurde eine standardisierte klinische Allgemeinuntersuchung

durchgeführt, um den Gesundheitsstatus zu evaluieren und das Vorliegen zusätzlicher Erkrankungen zu identifizieren.

#### **2.2.2.2. Laboruntersuchungen**

Zur Gewinnung der venösen Blutproben wurde die *Vena cephalica antebrachii* oder die *Vena saphena lateralis* nach Rasur des Fells und Desinfektion der Haut mit kodan<sup>®</sup> Tinktur forte (Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) mit einer sterilen Einmalkanüle (BD Microlance<sup>™</sup> 3, 20 G, 0,9 x 40 Millimeter (mm), Becton Dickinson GmbH, Fraga, Spanien) punktiert und jeweils circa (ca.) 1 Milliliter (ml) Blut freitropfend in einem Ehtylendiamintetraessigsäure (EDTA) beschichteten 2 ml Tube-EDTA-Röhrchen (Sarstedt, AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) sowie ca. 3 – 4 ml Blut freitropfend in einem 4,5 ml Serumröhrchen (7,5 x 13 mm, Z, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) aufgefangen.

Zur Anfertigung eines Blutbildes mit Differenzialblutbild und zur Bestimmung der Laborparameter aus dem Serum wurden die venösen Blutproben nach Entnahme in das Labor der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München verbracht und dort bearbeitet und untersucht. Die Blutproben im 4,5 ml Serumröhrchen (7,5 x 13 mm, Z, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) wurden mit der Zentrifuge Universal 32 R (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) für fünf Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und somit Serum und Plasma getrennt.

##### **2.2.2.2.1. Blutbild mit Differenzialblutbild**

Aus den gewonnenen Blutproben wurde ein Blutbild mit Differenzialblutbild mithilfe des Analysegeräts Sysmex XT-2000iv der Firma Sysmex Deutschland GmbH (Norderstedt, Deutschland) erstellt. Dabei wurde die Anzahl der Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, Lymphozyten, Monozyten und der neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten ermittelt. Außerdem wurden in diesem Gerät der Hämatokrit und das Hämoglobin bestimmt.

##### **2.2.2.2.2. Biochemie**

Aus den gewonnenen Serumproben wurde ein Biochemieprofil angefertigt. Dies enthielt die Parameter AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, Kalium, Natrium und Phosphat. Diese Messungen wurden mit dem Gerät Cobas Integra<sup>®</sup> 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) im Labor der Medizinischen

Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Zur Bestimmung der SIAP wurde die Probe zunächst für zwei Minuten auf 65 Grad Celsius (°C) erhitzt. Nach der Abkühlung der Probe erfolgte die Bestimmung mit dem Gerät Cobas Integra® 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) genauso wie bei den anderen Parametern.

#### **2.2.2.2.3. Urinuntersuchung**

Bei den Patienten wurde entweder Spontanurin aufgefangen oder es erfolgte eine Zystozentese unter Ultraschallkontrolle. Hierfür wurde, nach Rasur des Fells und Desinfektion der Haut mit kodan® Tinktur forte (Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) mit einer sterilen Einmalkanüle (BD Microlance™ 3, 22 G, 0,7 x 30 mm, Becton Dickinson GmbH, Fraga, Spanien) und aufgesetzter Spritze (B Braun Inject 10 ml, B. Braun Melsungen Ag, Melsungen, Deutschland) die Harnblase durch die Bauchdecke punktiert und ca. 3 – 4 ml Urin abgezogen. Die folgenden Laboruntersuchungen wurden im Labor der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Zur Bestimmung des USG wurde der Deckel eines Refraktometers (Rhino VET360 Veterinary Clinical Refractometer – Part #137536L0, Reichert™ Technologies, Depew, USA) geöffnet und zwei Tropfen Urin auf das Ablesefeld mit einer Pasteurpipette (Plastibrand™ Pasteurpipette, 500 pcs., Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Germany) aufgetropft. Der Deckel wurde vorsichtig geschlossen und das USG ermittelt, indem die Grenzlinie zwischen blauem und weißem Bereich auf der linken Skala für Hunde abgelesen wurde.

Es wurde ein Teststreifen (Combur<sup>9</sup> Test® Teststreifen, Roche Diagnostics GmbH, Deutschland) für ca. zwei Sekunden in den Urin getaucht. Der Teststreifen wurde entnommen. Überschüssiger Urin auf dem Teststreifen wurde entfernt, indem der Teststreifen mit der Längsseite auf ein Papiertuch aufgelegt wurde. Somit wurde eine Vermischung der Testfeldreagenzien verhindert. Der Teststreifen wurde abgelesen, indem die Reaktionsfelder mit der Farbtabelle des Combur<sup>9</sup>-Röhrchens verglichen wurden. Es wurde der pH-Wert, der Eiweiß-Gehalt, das Vorhandensein von Glukose und Ketonkörpern abgelesen.

Die Urinprobe wurde mit der Zentrifuge Universal 32 R (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) für fünf Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und somit Sediment und Überstand getrennt. Der

Urinüberstand wurde mittels einer 500 Mikroliter (µl) Eppendorfpipette (Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland) entnommen. Aus dem Urinüberstand wurde mit dem Gerät Cobas Integra® 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) der Mikroproteingehalt sowie der Kreatinin-Gehalt bestimmt. Anschließend wurde der Quotient errechnet und somit das UPC bestimmt.

#### **2.2.2.2.4. ACTH-Stimulationstest**

Bei jeder Therapiekontrolle wurde ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Alle ACTH-Stimulationstests wurden vier bis sechs Stunden nach der morgendlichen Gabe von Trilostan durchgeführt, wobei versucht wurde, diese auf vier Stunden nach der Tabletteneingabe von Trilostan zu terminieren, da sich dieser Zeitpunkt in der Expertenbefragung als Schnittstelle für die häufigste Durchführung ergab. Die Basis-Kortisol-Konzentration wurde direkt vor der intramuskulären Gabe von 0,25 mg synthetischem ACTH<sup>3</sup> und 60 Minuten später die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration bestimmt. Die Bestimmung der Basis- und ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration wurde bei der Firma IDEXX, Vet Med Labor GmbH in Ludwigsburg, Deutschland durchgeführt. Die Kortisol-Konzentrationen wurden mit einem Immulite 2000/Xpi (Immunoassay System) mittels eines Chemilumineszenz-Assay gemessen. Die untere Nachweisgrenze lag hierbei bei 3 nmol/l (0,1 µg/dl). Der Variationskoeffizient betrug bei einer Messgröße von 505 nmol/l (18,3 µg/dl) 3,7 % und bei einer Messgröße von 36 nmol/l (1,3 µg/dl) 9,9 %.

#### **2.2.3. Statistische Auswertung**

Alle Laborergebnisse und Patientendaten wurden in Tabellen der Tabellenkalkulationssoftware Microsoft Office Excel® 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Vereinigte Staaten von Amerika) eingegeben und für die statistische Auswertung in die Statistikprogramme IBM® SPSS® Statistics 21 (Fa. SPSS Inc., Chicago, Vereinigte Staaten von Amerika) und GraphPad Prism® 5.04 (Fa. GraphPad Software Inc., La Jolla, USA) übertragen. Das Signifikanzniveau lag für alle Tests bei  $P = 0,05$  mit einem Konfidenzniveau von 0,95.

Anhand der Bewertungen der Besitzer im Besitzerfragebogen wurden die klinischen Parameter, die mit eins bis fünf Punkten belegt worden waren, zu

---

<sup>3</sup> Synacthen, Defiante Farmacêutica SA, Funchal, Portugal

Basal- und stimulierter Kortisol-Konzentration mittels der Rangkorrelation nach Spearman korreliert. Auch der Zusammenhang zwischen Laborparametern mit Basal- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration wurde mittels des Spearmans Rang-Korrelationskoeffizient errechnet. Außerdem wurde die Basis-Kortisol-Konzentration zu der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman korreliert.

Tbl. 7 gibt die Parameter wieder, die in die statistische Auswertung eingeschlossen wurden.

**Tabelle 7: Parameter, die in die statistische Auswertung eingeschlossen wurden (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, SIAP = steroid-induzierte Isoform der Alkalischen Phosphatase, UPC = Urin-Protein-Kreatinin-Quotient, USG = Urin-spezifisches Gewicht)**

Klinische Parameter	Laborparameter
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Besitzerzufriedenheit</li> <li>• Polydipsie</li> <li>• Polyurie</li> <li>• Polyphagie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• USG</li> <li>• UPC</li> <li>• Thrombozyten</li> <li>• AP</li> <li>• SIAP</li> <li>• Cholesterol</li> <li>• Triglyceride</li> <li>• Kalium</li> <li>• Natrium</li> <li>• Phosphat</li> <li>• Basis-Kortisol-Konzentration</li> <li>• stimulierte Kortisol-Konzentration (60 Minuten nach ACTH-Injektion)</li> </ul>

Da von den Patienten unterschiedlich viele Untersuchungszeitpunkte vorhanden waren, war es wichtig, dies bei der statistischen Auswertung zu berücksichtigen. Somit wurden verschiedene Auswertungsgruppen gebildet. Tbl. 8 gibt die Auswertungsgruppen wieder.

**Tabelle 8: Überblick über die verschiedenen Auswertungsgruppen, die in die statistische Auswertung eingingen (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon)**

<b>Auswertungsgruppe</b>	<b>Anzahl ACTH-Stimulationstests</b>	<b>Anzahl Patienten</b>
Alle ACTH-Stimulationstests	61	25
ACTH-Stimulationstests bei Hunden, die einmal täglich Trilostan erhielten	51	19
ACTH-Stimulationstests bei neu-diagnostizierten Patienten nach vier bis fünf Wochen Therapie	8	8

Um einen Laborparameter zu ermitteln, der die klinische Einstellung wiedergab, wurden die klinischen Parameter Polydipsie, Polyurie und Polyphagie mittels der Rangkorrelation nach Spearman zu den Laborparametern (Thrombozyten, AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, USG, UPC, Natrium, Kalium, Phosphat) korreliert. Hier erfolgte keine Eingruppierung in Auswertungsgruppen.

Bei den neu-diagnostizierten Patienten wurden selektive Parameter auf eine statistisch signifikante Veränderung im Verlauf von Therapiebeginn bis zur zweiten Kontrolluntersuchung betrachtet. Hierfür wurden die Werte auf Normalverteilung getestet (D'Agostino & Pearon omnibus normality test). Konnte aufgrund zu geringer Anzahl dieser Test nicht durchgeführt werden oder lag keine Normalverteilung vor, wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test (Wilcoxon matched-pairs signed rank test) angewendet. Bei Normalverteilung wurde der gepaarte T-Test (paired t-test) angewendet.



## IV. ERGEBNISSE

Der Ergebnisteil gliedert sich in die Ergebnisse der Voruntersuchung und in die Ergebnisse der klinischen Studie.

### 1. Ergebnisse der Voruntersuchung

Die Ergebnisse der Voruntersuchung repräsentieren die Ergebnisse der Expertenbefragung.

#### 1.1. Beurteilung des Therapieerfolgs

In nachfolgender Tbl. 9 sind die Parameter aufgeführt, die in der Expertenbefragung eine hohe Punktzahl, das heißt einen Medianwert über acht erreichten und somit nach Expertenmeinung wichtig zur Beurteilung des Therapieerfolgs sind. Es geht hervor, dass die Symptome Polydipsie, Polyurie und Polyphagie (alle hinweisend auf einen Hyperkortisolismus), sowie die Symptome Anorexie, Apathie, Erbrechen und Durchfall (alle hinweisend auf einen Hypokortisolismus), wie auch die Besitzerzufriedenheit und das Allgemeinbefinden des Patienten als wichtig erachtet wurden. Als Laborparameter wurden die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration sowie der Natrium- und Kaliumspiegel mit einem Medianwert über acht bewertet.

**Tabelle 9: Parameter, die in der Expertenbefragung als wichtig (Median  $\geq$  8) für die Beurteilung des Therapieerfolgs bewertet wurden (Skala von „1 = nicht wichtig“ bis hin zu „10 = sehr wichtig“) (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon)**

Parameter	Median	1. Quartil	3. Quartil
ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration	10,0	9,5	10,0
Polyurie	10,0	9,0	10,0
Anorexie	10,0	8,0	10,0
Polydipsie	9,5	9,0	10,0
Erbrechen	9,0	7,5	10,0
Polyphagie	8,0	7,0	10,0
Apathie	8,0	7,0	10,0
Durchfall	8,0	6,0	10,0
Allgemeinbefinden	8,0	6,8	9,0
Besitzerzufriedenheit	8,0	6,0	9,0
Natriumkonzentration	8,0	5,8	10,0
Kaliumkonzentration	8,0	5,3	10,0

Wenn die Experten sich nur nach einem Parameter zur Therapiebeurteilung richten könnten, dann würden 75,0 % (21/28) den ACTH-Stimulationstest und 14,3 % (4/28) die Besitzerzufriedenheit wählen.

Was die Durchführung des ACTH-Stimulationstests anbelangt, applizieren genauso viele Experten (42,9 % = 12/28) synthetisches ACTH i.m. wie i.v.. 42,9 % (12/28) führen den ACTH-Stimulationstest zwei bis vier Stunden und 32,1 % (9/28) vier bis sechs Stunden nach Trilostan-Gabe durch. Keiner der Experten führt den ACTH-Stimulationstest zu einem beliebigen Zeitpunkt durch. Die Mehrheit der Experten (32,1 %; 9/28) wünschte eine Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation im Bereich von 40 bis 150 nmol/l (1,5 – 5,5 µg/dl), gefolgt von 50 bis 200 nmol/l (1,8 – 7,3 µg/dl).

Der erste ACTH-Stimulationstest nach Therapiebeginn mit Trilostan sollte nach der Mehrheit der Expertenmeinung nach zehn Tagen durchgeführt werden (46,4 %; 13/28). Insgesamt gaben alle der Experten, die die Frage beantworteten, an, dass im Zeitraum von sieben bis 14 Tagen nach Therapiebeginn ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt werden sollte.

Neun der Experten (9/28; 32,1 %) erhöhen die Trilostan-Dosis nach sieben bis 14 Tagen Therapie, wenn die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration nicht im gewünschten Zielbereich liegt. 25,0 % (7/28) der Experten führen zu diesem Zeitpunkt keine Dosiserhöhung durch. 10,7 % (3/28) richten sich nach der klinischen Symptomatik und 14,3 % (4/28) nach dem Abfall der Kortisol-Konzentration in Bezug auf den Wert vor Therapiebeginn. Zusätzlich vermerkte einer der Experten, dass die Einschätzung der Besitzer bezüglich der klinischen Symptomatik genutzt werden sollte, um zu bestimmen, ob eine ausreichende Trilostan-Dosis gegeben werde, und der ACTH-Stimulationstest, um eine Überdosierung von Trilostan auszuschließen.

Sobald die Patienten stabil seien, gaben 39,3 % (11/28) der Experten an, einen ACTH-Stimulationstest alle drei Monate durchzuführen. Fast genauso viele Experten (35,7 %; 10/28) führen Therapiekontrollen durch ACTH-Stimulationstest dann nur noch alle sechs Monate durch. In nachfolgender Tbl. 10 sind die Ergebnisse der Expertenbefragung wiedergegeben.

**Tabelle 10: Ergebnisse der Expertenbefragung zum ACTH-Stimulationstest (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon)**

Frage	Antwortmöglichkeiten	Anzahl der Experten	Gesamtanzahl der erhaltenen Antworten
Wie injizieren Sie synthetisches ACTH?	intravenös	12	n = 24
	intramuskulär	12	
	keine Antwort	4	
Wie führen Sie einen ACTH-Stimulationstest bei einer Kontrolluntersuchung der Trilostan-Therapie durch?	4 – 6 Stunden nach Trilostan-Applikation	9	n = 24
	2 – 4 Stunden nach Trilostan-Applikation	12	
	zu einem beliebigem Zeitpunkt	0	
	sonstiges	3	
	keine Antwort	4	
Welche ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration erwarten Sie als Zielbereich bei Durchführung eines ACTH-Stimulationstests zur Therapiekontrolle?	20 – 200 nmol/l (0,73 – 7,3 µg/dl)	0	n = 24
	40 – 120 nmol/l (1,5 – 4,4 µg/dl)	4	
	40 – 150 nmol/l (1,5 – 5,5 µg/dl)	9	
	40 – 250 nmol/l (1,5 – 9,1 µg/dl)	1	
	50 – 200 nmol/l (1,8 – 7,3 µg/dl)	6	
	120 – 200 nmol/l (4,4 – 7,3 µg/dl)	0	
	sonstiges	4	
	keine Antwort	4	
Zu welchem Zeitpunkt führen Sie den ersten ACTH-Stimulationstest nach Therapiebeginn durch?	nach 7 Tagen	4	n = 24
	nach 10 Tagen	13	
	nach 14 Tagen	5	
	nach 4 Wochen	0	
	sonstiges	2	
	keine Antwort	4	
Erhöhen Sie die Trilostan-Dosis, wenn Sie einen ACTH-Stimulationstest innerhalb 7 – 14 Tagen nach Therapiebeginn durchführen und die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration nicht im Zielbereich liegt?	ja	9	n = 23
	nein	7	
	sonstiges	7	
	keine Antwort	4	
Wie häufig führen Sie einen ACTH-Stimulationstest zur Therapiekontrolle durch, sobald der Patient stabil ist?	alle 4 Wochen	0	n = 24
	alle 3 Monate	11	
	alle 6 Monate	10	
	sonstiges	3	
	keine Antwort	4	

## 1.2. Dosierung von Trilostan

Die meisten Experten (78,3 %; 18/23) richteten sich bei der Dosierung von Trilostan nach dem Körpergewicht und beginnen die Therapie mit einer einmal täglichen Gabe (58,3 %; 14/24). 41,7 % beginnen (10/24) mit einer zweimal täglichen Gabe. Die gebräuchlichste Startdosis beträgt 2 mg/kg einmal täglich (39,1 %; 9/24), gefolgt von 0,5 – 1 mg/kg zweimal täglich (26,1 %; 6/24). Nachfolgende Tbl. 11 gibt die Ergebnisse der Befragung wieder.

**Tabelle 11: Ergebnisse der Expertenbefragung zur Therapie mit Trilostan**

Frage	Antwortmöglichkeiten	Anzahl der Experten	Gesamtanzahl der erhaltenen Antworten
Wie dosieren Sie bei Therapiebeginn Trilostan? Abhängig von...	der Kapselgröße (z. B. Körpergewicht < 10 Kilogramm (kg) = 30 mg Trilostan; Körpergewicht 10 – 20 kg = 60 mg Trilostan)	5	n = 23
	dem Körpergewicht	18	
	keine Antwort	5	
Beginnen Sie die Therapie mit Trilostan einmal oder zweimal täglich?	einmal täglich	14	n = 24
	zweimal täglich	10	
	keine Antwort	4	
Wenn Sie nach Körpergewicht dosieren, welche Startdosis verwenden Sie?	< 2 mg/kg einmal täglich	1	n = 23
	2 mg/kg einmal täglich	9	
	2 – 5 mg/kg einmal täglich	3	
	0,5 – 1 mg/kg zweimal täglich	6	
	1 – 2,5 mg/kg zweimal täglich	4	
	keine Antwort	5	

## 2. Ergebnisse der Hauptuntersuchung

Alle 61 ACTH-Stimulationstests wurden in die statistische Datenauswertung eingeschlossen. Zusätzlich wurden zwei Untergruppen separat ausgewertet (die zweite Therapiekontrolle (mindestens vier Wochen Therapie) nach Beginn der Therapie bei neu-diagnostizierten Patienten (n = 8) und die Untersuchungen, bei denen die Patienten Trilostan nur einmal täglich erhielten (n = 51)).

## 2.1. Klinische Symptome und Laborparameter

Bei den Therapiekontrollen wurden klinische Symptome und labordiagnostische Parameter dokumentiert. Diese Werte sind in den folgenden Tbl. 12, 13 und 14 wiedergegeben.

**Tabelle 12: Klinische Symptome und Laborparameter bei 25 Patienten mit HAC unter Therapie mit Trilostan bei den Therapiekontrollen (n = 61) (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, Max. = Maximum, Min. = Minimum, SD = Standardabweichung, SIAP = steroid-induzierte Alkalische Phosphatase, UPC = Urin-Protein-Kreatinin-Quotient, USG = Urin-spezifisches Gewicht)**

Parameter	Min.	Max.	Mittelwert	Median	SD
Polyurie	1,0	5,0	3,2	3,0	1,3
Polydipsie	1,0	5,0	3,1	3,0	1,3
Polyphagie	1,0	5,0	2,5	2,0	1,5
Besitzerzufriedenheit	1,0	5,0	4,2	4,0	1,0
USG	1,008	1,042	1,024	1,023	0,009
UPC	0,1	4,5	1,0	0,3	1,3
Thrombozytenzahl (10 <sup>9</sup> /l)	222,0	751,0	451,3	434,0	135,4
AP-Aktivität (U/l)	27,0	1920,0	376,9	233,0	451,4
SIAP-Aktivität (U/l)	5,0	1901,0	323,3	203,0	403,6
Cholesterol-Konzentration (Millimol pro Liter (mmol/l))	3,6	16,5	9,1	8,8	2,9
Triglycerid-Konzentration (mmol/l)	0,4	15,6	4,2	3,6	3,1
Kalium-Konzentration (mmol/l)	4,3	7,7	5,3	5,3	0,5
Natrium-Konzentration (mmol/l)	140,0	160,0	146,7	146,0	3,0
Phosphat-Konzentration (mmol/l)	0,9	1,9	1,3	1,3	0,2
Basis-Kortisol-Konzentration (µg/dl)	0,7	11,0	4,1	3,8	2,3
ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration (µg/dl)	0,9	15,7	8,1	8,1	3,5

**Tabelle 13: Klinische Symptome und Laborparameter bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten (n = 51) (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, Max. = Maximum, Min. = Minimum, SD = Standardabweichung, SIAP = steroid-induzierte Alkalische Phosphatase, UPC = Urin-Protein-Kreatinin-Quotient, USG = Urin-spezifisches Gewicht)**

Parameter	Min.	Max.	Mittelwert	Median	SD
Polyurie	1,0	5,0	3,3	3,0	1,3
Polydipsie	1,0	5,0	3,2	3,0	1,3
Polyphagie	1,0	5,0	2,5	2,0	1,5
Besitzerzufriedenheit	1,0	5,0	4,2	4,0	0,9
USG	1,008	1,042	1,025	1,025	0,009
UPC	0,1	4,5	1,1	0,3	1,3
Thrombozytenzahl (10 <sup>9</sup> /l)	222,0	741,0	446,6	432,0	142,4
AP-Aktivität (U/l)	27,0	1920,0	387,7	233,0	483,2
SIAP-Aktivität (U/l)	21,0	1901,0	326,2	203,0	428,6
Cholesterol-Konzentration (mmol/l)	3,6	14,2	8,9	8,6	2,7
Triglycerid-Konzentration (mmol/l)	0,4	15,6	4,0	3,5	3,0
Kalium-Konzentration (mmol/l)	4,3	7,7	5,4	5,2	0,6
Natrium-Konzentration (mmol/l)	140,0	160,0	146,7	146,0	3,2
Phosphat-Konzentration (mmol/l)	0,9	1,9	1,3	1,3	0,2
Basis-Kortisol-Konzentration (µg/dl)	0,7	11,0	3,9	3,7	3,2
ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration (µg/dl)	0,9	15,7	8,2	8,3	3,7

**Tabelle 14: Klinische Symptome und Laborparameter bei 8 neu-diagnostizierten Patienten nach 4 – 5 Wochen Therapie mit Trilostan (n = 8) (ACTH = Adrenokortikotropes Hormon, AP = Alkalische Phosphatase, Max. = Maximum, Min. = Minimum, SD = Standardabweichung, SIAP = steroid-induzierte Alkalische Phosphatase, UPC = Urin-Protein-Kreatinin-Quotient, USG = Urin-spezifisches Gewicht)**

Parameter	Min.	Max.	Mittelwert	Median	SD
Polyurie	1,0	5,0	3,1	3,0	1,5
Polydipsie	1,0	5,0	3,3	3,5	1,5
Polyphagie	1,0	5,0	2,6	2,5	1,2
Besitzerzufriedenheit	1,0	5,0	4,0	4,5	1,4
USG	1,015	1,040	1,022	1,020	0,008
UPC	0,1	4,5	1,2	0,3	1,7
Thrombozytenzahl (10 <sup>9</sup> /l)	274,0	720,0	486,5	487,5	174,6
AP-Aktivität (U/l)	31,0	1920,0	462,6	310,0	665,1
SIAP-Aktivität (U/l)	26,0	1901,0	431,6	250,0	664,9
Cholesterol-Konzentration (mmol/l)	4,8	14,2	9,7	9,9	2,9
Triglycerid-Konzentration (mmol/l)	2,7	15,6	6,5	4,9	4,6
Kalium-Konzentration (mmol/l)	4,8	5,9	5,4	5,5	0,4
Natrium-Konzentration (mmol/l)	143,3	148,0	146,1	146,0	1,7
Phosphat-Konzentration (mmol/l)	1,0	1,9	1,4	1,4	0,3
Basis-Kortisol-Konzentration (µg/dl)	2,1	10,4	5,2	4,2	2,8
ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration (µg/dl)	4,2	14,0	10,0	11,2	3,8

## **2.2. Korrelationen**

Im Folgenden werden die Korrelationen zwischen den verschiedenen Parametern beschrieben.

### **2.2.1. Korrelation der klinischen Parameter und der Besitzerzufriedenheit mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration**

Tbl. 15 gibt die Ergebnisse der Spearman Rangkorrelation zwischen den klinischen Parametern (Polyurie, Polydipsie, Polyphagie) und der Besitzerzufriedenheit mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration wieder. Eine schwache, aber signifikante Korrelation war bei Hunden, die einmal täglich mit Trilostan therapiert wurden, zwischen Besitzerzufriedenheit und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration nachweisbar.

### **2.2.2. Korrelation der Laborparameter mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration**

Tbl. 16 gibt die Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman zwischen den Laborparametern mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration wieder. Es waren vereinzelt signifikante, aber insgesamt nur schwache Korrelationen nachweisbar.



**Tabelle 1: Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman der klinischen Parameter und der Besitzerzufriedenheit mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration (fett gedruckt = statistisch signifikant,  $r$  = Korrelationskoeffizient; Werte nahe bei 1 oder -1 repräsentieren eine starke Korrelation, während ein Wert nahe 0 eine schwache Korrelation repräsentiert, ein negatives „ $r$ “ repräsentiert eine inverse Korrelation,  $n$  = Anzahl der Untersuchungen,  $P$  = Signifikanzniveau)**

Parameter	Alle ACTH-Stimulationstests ( $n = 61$ ) bei 25 Hunden		ACTH-Stimulationstests ( $n = 51$ ) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten		ACTH-Stimulationstests ( $n = 8$ ) bei acht neu-diagnostizierten Patienten nach vier bis fünf Wochen Therapie	
	Korrelation zu		Korrelation zu		Korrelation zu	
	Basis-Kortisol- Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration	Basis-Kortisol- Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration	Basis-Kortisol- Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration
<b>Polyurie</b>	$r = 0,065$ $P = 0,622$	$r = 0,030$ $P = 0,821$	$r = 0,134$ $P = 0,348$	$r = 0,022$ $P = 0,880$	$r = 0,488$ $P = 0,220$	$r = 0,400$ $P = 0,326$
<b>Polydipsie</b>	$r = 0,016$ $P = 0,903$	$r = 0,054$ $P = 0,687$	$r = 0,116$ $P = 0,418$	$r = 0,029$ $P = 0,838$	$r = 0,390$ $P = 0,339$	$r = 0,376$ $P = 0,359$
<b>Polyphagie</b>	$r = 0,114$ $P = 0,401$	$r = -0,133$ $P = 0,330$	$r = 0,202$ $P = 0,159$	$r = -0,095$ $P = 0,513$	$r = 0,504$ $P = 0,203$	$r = 0,175$ $P = 0,678$
<b>Besitzerzufriedenheit</b>	$r = -0,191$ $P = 0,159$	$r = -0,236$ $P = 0,080$	$r = -0,234$ $P = 0,106$	<b><math>r = -0,321</math></b> <b><math>P = 0,024</math></b>	$r = 0,148$ $P = 0,727$	$r = -0,026$ $P = 0,952$

**Tabelle 1: Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman zwischen den Laborparametern mit der Basis- und ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration (fett gedruckt = statistisch signifikant,  $r$  = Korrelationskoeffizient, Werte nahe bei 1 oder -1 repräsentieren eine starke Korrelation, während ein Wert nahe 0 eine schwache Korrelation repräsentiert, ein negatives „ $r$ “ repräsentiert eine inverse Korrelation,  $n$  = Anzahl der Untersuchungen,  $P$  = Signifikanzniveau)**

Parameter	Alle ACTH-Stimulationstests ( $n = 61$ ) bei 25 Stunden		ACTH-Stimulationstests ( $n = 51$ ) bei 19 Stunden, die Trilostan einmal täglich erhielten		ACTH-Stimulationstests ( $n = 8$ ) bei acht neu diagnostizierten Patienten nach vier bis fünf Wochen Therapie	
	Korrelation zu		Korrelation zu		Korrelation zu	
	Basis-Kortisol-Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration	Basis-Kortisol-Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration	Basis-Kortisol-Konzentration	ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration
USG	$r = -0,040$ $P = 0,778$	$r = -0,026$ $P = 0,854$	$r = -0,042$ $P = 0,789$	$r = -0,129$ $P = 0,414$	$r = 0,336$ $P = 0,461$	$r = -0,018$ $P = 0,969$
UPC	<b><math>r = -0,344</math></b> <b><math>P = 0,026</math></b>	$r = 0,053$ $P = 0,737$	<b><math>r = -0,378</math></b> <b><math>P = 0,025</math></b>	$r = 0,069$ $P = 0,693$	$r = -0,382$ $P = 0,398$	$r = -0,234$ $P = 0,613$
Thrombozytenzahl	<b><math>r = 0,275</math></b> <b><math>P = 0,045</math></b>	$r = -0,025$ $P = 0,856$	$r = 0,290$ $P = 0,056$	$r = 0,053$ $P = 0,730$	$r = -0,174$ $P = 0,742$	$r = -0,600$ $P = 0,208$
AP-Aktivität	$r = 0,050$ $P = 0,721$	$r = 0,088$ $P = 0,526$	$r = 0,101$ $P = 0,514$	$r = 0,170$ $P = 0,270$	$r = -0,090$ $P = 0,848$	$r = 0,143$ $P = 0,760$
SIAP-Aktivität	$r = 0,103$ $P = 0,463$	$r = 0,179$ $P = 0,200$	$r = 0,186$ $P = 0,231$	$r = 0,272$ $P = 0,078$	$r = -0,054$ $P = 0,908$	$r = 0,179$ $P = 0,702$
Cholesterol-Konzentration	$r = -0,025$ $P = 0,858$	$r = -0,073$ $P = 0,602$	$r = -0,001$ $P = 0,994$	$r = 0,053$ $P = 0,734$	$r = -0,036$ $P = 0,939$	$r = -0,321$ $P = 0,482$
Triglycerid-Konzentration	$r = 0,133$ $P = 0,349$	<b><math>r = 0,289</math></b> <b><math>P = 0,038</math></b>	$r = 0,141$ $P = 0,360$	<b><math>r = 0,378</math></b> <b><math>P = 0,012</math></b>	$r = -0,090$ $P = 0,848$	$r = 0,143$ $P = 0,760$
Kalium-Konzentration	$r = 0,100$ $P = 0,476$	$r = -0,079$ $P = 0,572$	$r = 0,117$ $P = 0,453$	$r = -0,078$ $P = 0,617$	$r = -0,288$ $P = 0,531$	$r = -0,643$ $P = 0,119$
Natrium-Konzentration	$r = 0,250$ $P = 0,071$	<b><math>r = 0,344</math></b> <b><math>P = 0,012</math></b>	$r = 0,279$ $P = 0,070$	$r = 0,299$ $P = 0,052$	<b><math>r = 0,782</math></b> <b><math>P = 0,038</math></b>	<b><math>r = 0,847</math></b> <b><math>P = 0,016</math></b>
Phosphat-Konzentration	$r = 0,081$ $P = 0,566$	$r = 0,249$ $P = 0,072$	$r = 0,115$ $P = 0,462$	<b><math>r = 0,307</math></b> <b><math>P = 0,045</math></b>	$r = -0,108$ $P = 0,818$	$r = 0,250$ $P = 0,589$

### 2.2.3. Korrelation der Basis-Kortisol-Konzentration mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration

Tbl. 17 gibt die Korrelation der Basis- mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration wieder. In allen Auswertungsgruppen liegt eine moderate bis hohe signifikante Korrelation vor.

**Tabelle 17: Korrelation von Basis-Kortisol-Konzentration mit ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration (fett gedruckt = statistisch signifikant,  $r$  = Korrelationskoeffizient, Werte nahe bei 1 oder -1 repräsentieren eine starke Korrelation, während ein Wert nahe 0 eine schwache Korrelation repräsentiert, ein negatives „ $r$ “ repräsentiert eine inverse Korrelation,  $n$  = Anzahl der Untersuchungen,  $P$  = Signifikanzniveau)**

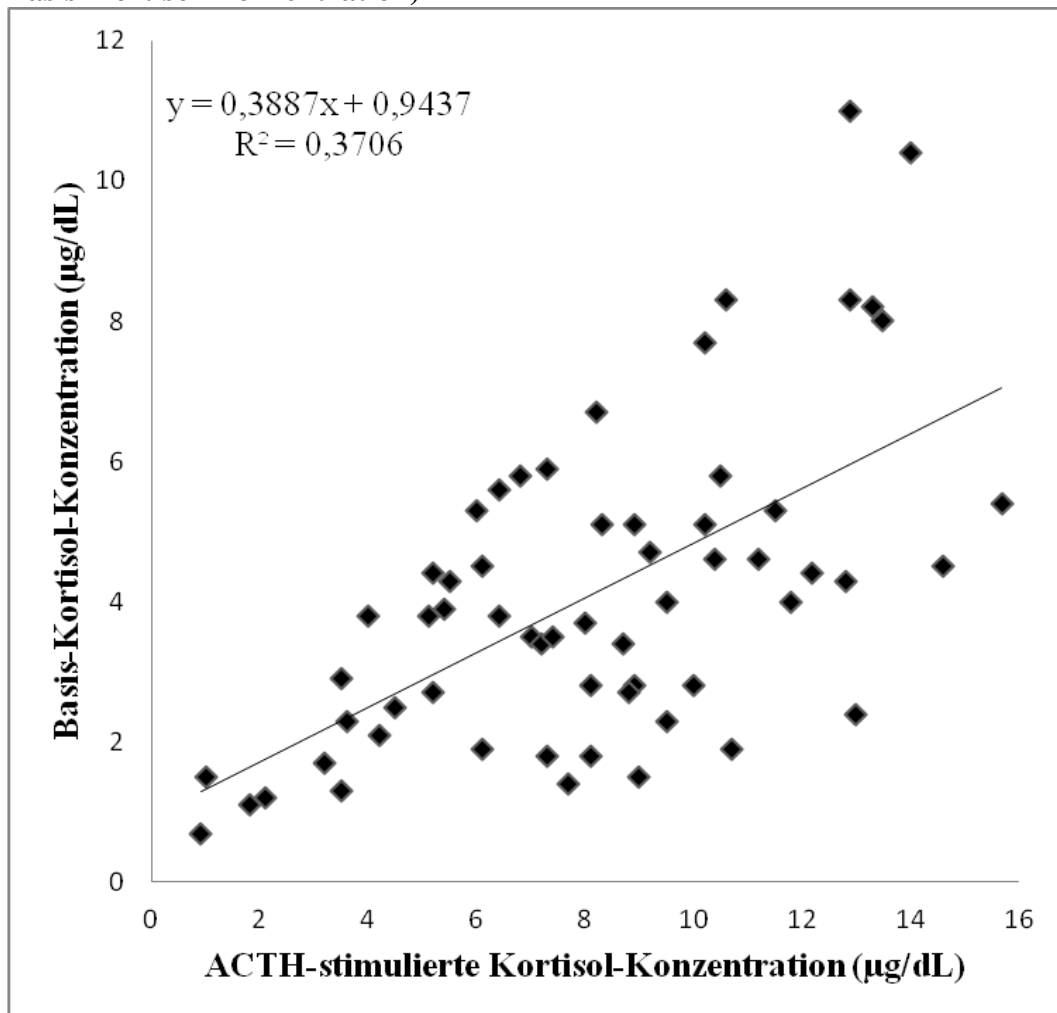
	Alle ACTH-Stimulationstests ( $n = 61$ ) bei 25 Hunden	ACTH-Stimulationstests ( $n = 51$ ) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten	ACTH-Stimulationstests ( $n = 8$ ) bei acht neu- diagnostizierten Patienten nach vier bis fünf Wochen Therapie
	Korrelation zu ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration		
Basis-Kortisol-Konzentration	<b><math>r = 0,596</math></b> <b><math>P &lt; 0,001</math></b>	<b><math>r = 0,649</math></b> <b><math>P &lt; 0,001</math></b>	<b><math>r = 0,910</math></b> <b><math>P = 0,002</math></b>

In Abbildung 1 ist die Korrelation der Basis- mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration bei Auswertung aller Testzeitpunkte ( $n = 61$ ) bei 25 Hunden dargestellt.

### 2.2.4. Korrelation der klinischen Symptome Polydipsie, Polyurie und Polyphagie mit den Laborparametern

In nachfolgender Tabelle 18 sind die Rangkorrelationen nach Spearman zwischen den klinischen Parametern mit den Laborparametern dargestellt. Die klinischen Parameter waren hierfür mit Punkten (1 – 5) belegt worden, so dass eine hohe Punktzahl widerspiegelt, dass das Symptom fast nicht mehr vorhanden ist, während eine niedrige Punktzahl für eine starke Ausprägung der Symptomatik spricht.

**Abbildung 1: Korrelation von Basis- mit ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration ( $r = 0,596$ ,  $P < 0,001$ ,  $n = 61$ ). ( $r$  = Korrelationskoeffizient; ein Wert nahe 1 oder -1 repräsentiert eine starke Korrelation, ein Wert nahe 0 repräsentiert eine schwache Korrelation, ein negatives „ $r$ “ repräsentiert eine inverse Korrelation,  $P$  = Signifikanzniveau,  $n$  = Anzahl der Untersuchungen,  $R^2$  = Bestimmtheitsmaß,  $x$  = ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration,  $y$  = Basis-Kortisol-Konzentration)**



### 2.3. Evaluierung der neu-diagnostizierten Patienten im Therapieverlauf

Die neu-diagnostizierten Patienten wurden separat im Therapieverlauf betrachtet.

#### 2.3.1. Labor- und Hormonwerte

Im Folgenden werden die Entwicklungen der Laborparameter im Therapieverlauf bei den neu-diagnostizierten Patienten dargelegt.

**Tabelle 18: Korrelation der klinischen Symptome mit Laborparametern der acht neu-diagnostizierten Patienten im Therapieverlauf (fett gedruckt = statistisch signifikant,  $r$  = Korrelationskoeffizient, Werte nahe bei 1 oder -1 repräsentieren eine starke Korrelation, während ein Wert nahe 0 eine schwache Korrelation repräsentiert, ein negatives „ $r$ “ repräsentiert eine inverse Korrelation,  $P$  = Signifikanzniveau,  $n$  = Anzahl der Untersuchungen)**

Parameter	Polydipsie	Polyurie	Polyphagie
UPC	$r = -0,115$ $P = 0,485$ $n = 39$	$r = -0,050$ $P = 0,758$ $n = 40$	<b><math>r = -0,552</math></b> <b><math>P &lt; 0,001</math></b> <b><math>n = 39</math></b>
USG	<b><math>r = 0,395</math></b> <b><math>P = 0,006</math></b> <b><math>n = 47</math></b>	<b><math>r = 0,537</math></b> <b><math>P &lt; 0,001</math></b> <b><math>n = 48</math></b>	<b><math>r = 0,318</math></b> <b><math>P = 0,029</math></b> <b><math>n = 47</math></b>
Thrombozyten- zahl	$r = -0,078$ $P = 0,588$ $n = 51$	$r = -0,096$ $P = 0,496$ $n = 52$	<b><math>r = 0,385</math></b> <b><math>P = 0,006</math></b> <b><math>n = 50</math></b>
Kalium- Konzentration	$r = -0,139$ $P = 0,337$ $n = 50$	$r = -0,223$ $P = 0,116$ $n = 51$	$r = 0,079$ $P = 0,588$ $n = 49$
Natrium- Konzentration	$r = -0,248$ $P = 0,083$ $n = 50$	$r = -0,198$ $P = 0,164$ $n = 51$	<b><math>r = -0,348</math></b> <b><math>P = 0,014</math></b> <b><math>n = 49</math></b>
Phosphat- Konzentration	$r = 0,169$ $P = 0,242$ $n = 50$	$r = -0,204$ $P = 0,151$ $N = 51$	<b><math>r = -0,454</math></b> <b><math>P = 0,001</math></b> <b><math>n = 49</math></b>
AP-Aktivität	<b><math>r = -0,313</math></b> <b><math>P = 0,025</math></b> <b><math>n = 51</math></b>	$r = -0,224$ $P = 0,110$ $n = 52$	<b><math>r = -0,344</math></b> <b><math>P = 0,014</math></b> <b><math>n = 50</math></b>
SIAP-Aktivität	$r = -0,337$ $P = 0,017$ $n = 50$	$r = -0,249$ $P = 0,078$ $n = 51$	<b><math>r = -0,376</math></b> <b><math>P = 0,008</math></b> <b><math>n = 49</math></b>
Triglyceride- Konzentration	$r = 0,118$ $P = 0,421$ $n = 49$	$r = 0,126$ $P = 0,382$ $n = 50$	$r = 0,127$ $P = 0,390$ $n = 48$
Cholesterol- Konzentration	$r = 0,005$ $P = 0,971$ $n = 50$	$r = -0,033$ $P = 0,819$ $n = 51$	<b><math>r = -0,297</math></b> <b><math>P = 0,038</math></b> <b><math>n = 48</math></b>

### 2.3.1.1. Basis- und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration

Bei den neu-diagnostizierten Patienten ( $n = 13$ ) reichte die Basis-Kortisol-Konzentration von 69 bis 483 nmol/l (2,5 – 17,5 µg/dl; median 185 nmol/l/ 6,7 µg/dl;  $n = 11$ ) vor Therapiebeginn. Bei der ersten Kontrolluntersuchung (median 7 Tage nach Therapiebeginn, 6 – 15 Tage) reichte die Basis-Kortisol-Konzentration von 41 bis 149 nmol/l (1,5 – 5,4 µg/dl; median 77 nmol/l/2,8 µg/dl;  $n = 12$ ) und bei der zweiten Kontrolluntersuchung ( $n = 8$ , median 36 Tage unter Trilostan-Therapie, 35 – 50 Tage) von 41 bis 287 nmol/l (2,1 – 10,4 µg/dl; median 116 nmol/l/4,2 µg/dl;  $n = 8$ ). Dies ist in Tbl. 19 verdeutlicht.

**Tabelle 19: Entwicklung der Basis-Kortisol-Konzentration bei acht neu-diagnostizierten Patienten im Therapieverlauf**

	<b>Vor Therapiebeginn (n = 11)</b>	<b>1. Kontrolle (median 7 Tage nach Therapiebeginn; 6 - 15 Tage) (n = 12)</b>	<b>2. Kontrolle (median 36 Tage unter Trilostan-Therapie, 35 – 50 Tage) (n = 8)</b>
<b>Range</b>	69 – 483 nmol/l (2,5 – 17,5 µg/dl)	41 – 149 nmol/l (1,5 – 5,4 µg/dl)	41 – 287 nmol/l (2,1 – 10,4 µg/dl)
<b>median</b>	185 nmol/l (6,7 µg/dl)	77 nmol/l (2,8 µg/dl)	116 nmol/l (4,2 µg/dl)

Vor Therapiebeginn reichte die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration von 563 bis 1686 nmol/l (20,4 – 61,1 µg/dl; median 781 nmol/l/28,3 µg/dl;  $n = 11$ ). Bei der ersten Therapiekontrolle reichte die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration von 88 bis 433 nmol/l (3,2 – 15,7 µg/dl; median 251 nmol/l/9,1 µg/dl,  $n = 12$ ) und von 116 bis 373 nmol/l (4,2 – 13,5 µg/dl; median 309 nmol/l/11,2 µg/dl,  $n = 8$ ) bei der zweiten Therapiekontrolle.

Eine signifikante Änderung im Verlauf lag nur bei der stimulierten Kortisol-Konzentration vor im Vergleich der Daten vor Therapiebeginn und bei Vorstellung zur ersten und zweiten Therapiekontrolle. Eine signifikante Änderung von erster zu zweiter Therapiekontrolle konnte nicht nachgewiesen werden. Dies ist in Tbl. 20 dargestellt.

**Tabelle 20: Entwicklung der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration bei acht neu-diagnostizierten Patienten im Therapieverlauf**

	Vor Therapiebeginn (n = 11)	1. Kontrolle (median 7 Tage nach Therapiebeginn; 6 – 15 Tage) (n = 12)	2. Kontrolle (median 36 Tage unter Trilostan-Therapie, 35 – 50 Tage) (n = 8)
<b>Range</b>	563 – 1686 nmol/l (20,4 – 61,1 µg/dl)	88 – 433 nmol/l (3,2 – 15,7 µg/dl)	116 – 373 nmol/l (4,2 – 13,5 µg/dl)
<b>median</b>	781 nmol/l (28,3 µg/dl)	251 nmol/l (9,1 µg/dl)	309 nmol/l (11,2 µg/dl)

Tbl. 21 zeigt die Ergebnisse des gepaarten T-Tests für das Vorliegen einer signifikanten Änderung der Basis-Kortisol- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration vor Therapiebeginn, der ersten und zweiten Kontrolle.

**Tabelle 21: Ergebnisse des gepaarten T-Test für das Vorliegen einer signifikanten Änderung der Basis-Kortisol-Konzentration und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration vor Therapiebeginn, bei der 1. und bei der 2. Therapiekontrolle (P = Signifikanzniveau) bei acht neu-diagnostizierten Patienten.**

Parameter	Vergleich der Parameter		
	vor Therapie/ 1. Kontrolle	vor Therapie/ 2. Kontrolle	1. Kontrolle/ 2. Kontrolle
<b>Basis-Kortisol Konzentration (n = 8)</b>	P = 0,0665	P = 0,1063	P = 0,3695
<b>ACTH-stimulierte Kortisol- Konzentration (n = 8)</b>	<b>P = 0,0005</b>	<b>P = 0,0019</b>	P = 0,7905

### 2.3.1.2. Urin-spezifisches Gewicht

Das USG reichte vor Therapiebeginn von 1.009 bis 1.024 (median 1.018, n = 8). Bei der ersten Therapiekontrolle reichte das USG von 1.017 bis 1.030 (median 1.024; n = 8) und bei der zweiten Therapiekontrolle von 1.015 bis 1.040 (median 1.020; n = 7). Hierbei ergab sich im Therapieverlauf keine signifikante Veränderung des USG.

### 2.3.2. Entwicklung der klinischen Symptome

Im Folgenden wird die Entwicklung der klinischen Symptome dargestellt.

#### 2.3.2.1. Entwicklung der klinischen Symptome von Therapiebeginn bis zur ersten Therapiekontrolle

Eine Beurteilung der klinischen Parameter der neu-diagnostizierten Patienten vor Therapiebeginn war nicht verfügbar. Aber die Besitzer (n = 12) wurden bei der ersten Therapiekontrolle (median 7 Tage nach Therapiebeginn, 6 – 15 Tage) über die Veränderungen der Symptomatik Polydipsie, Polyurie und Polyphagie seit Therapiebeginn befragt. Bezüglich der Polydipsie gaben fünf Besitzer (41,7 %) eine Verbesserung und sechs Besitzer (50,0 %) keine Veränderung an. Ein Besitzer (8,3 %) gab an, dass Polydipsie nie bestanden habe. Bezüglich der Polyurie gaben fünf Besitzer (41,7 %) eine Verbesserung und sechs Besitzer (50,0 %) keine Veränderung an. Ein Besitzer (8,3 %) gab an, dass Polyurie nie als Problem vorlag. Bezüglich der Polyphagie gab ein Besitzer (8,3 %) eine Verbesserung und elf Besitzer (91,7 %) keine Veränderungen der Polyphagie an.

#### 2.3.2.2. Veränderung der klinischen Symptome von erster bis zweiter Therapiekontrolle

Die klinischen Parameter können Werte von eins bis fünf erreichen, wobei ein höherer Wert eine bessere klinische Einstellung wiedergibt. Die medianen Werte der neu-diagnostizierten Patienten wurden zwischen erster (n = 12, median 7 Tage unter Trilostan-Therapie, 6 – 15 Tage) und zweiter Therapiekontrolle (n = 8, median 36 Tage unter Trilostan-Therapie, 35 – 50 Tage) verglichen. In Tbl. 22 sind diese wiedergegeben. Eine signifikante Änderung der klinischen Parameter von der ersten zu der zweiten Therapiekontrolle konnte nur für den Parameter Polydipsie (P = 0,0479; n = 8) nachgewiesen werden.

**Tabelle 22: Veränderungen der klinischen Parameter und der Besitzerzufriedenheit von erster bis zweiter Therapiekontrolle bei acht neu-diagnostizierten Patienten; die Parameter wurden durch den Besitzer in einer Skala von 1 bis 5 bewertet (1 = schlechte Einstellung bis 5 = gute Einstellung)**

Parameter	erste Therapiekontrolle: Median	zweite Therapiekontrolle: Median
Polydipsie	2,5	3,5
Polyurie	2,5	3,5
Polyphagie	2,0	3,5
Besitzerzufriedenheit	4,0	4,5



## V. DISKUSSION

Der ACTH-Stimulationstest stellt eine wichtige Methode dar, um die Nebennieren-Reserve-Kapazität zu beurteilen (COOK & BOND, 2010; RAMSEY, 2010). Ziel der Studie war es, herauszufinden, ob die klinischen Symptome bei Hunden mit HAC, die mit Trilostan therapiert werden mit den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest korrelieren. Dazu wurden in der vorliegenden Studie zum ersten Mal klinische Symptome (Polyurie, Polydipsie, Polyphagie) und die Besitzerzufriedenheit, die durch einen Fragebogen erfasst worden waren, mit den Resultaten des ACTH-Stimulationstests (Basis- und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration) korreliert. Außerdem wurde die Korrelation von selektiven Laborparametern (USG, UPC, Thrombozyten, AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, Kalium, Natrium, Phosphat) zu Basis- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration ermittelt. Die Basis-Kortisol-Konzentrationen wurden mit den zugehörigen ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentrationen verglichen.

Es gibt bislang keine klinischen Studien, die klinische Parameter in die statistische Datenauswertung einschließen und die Korrelation der klinischen Symptomatik zu den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest bei Patienten mit HAC unter Trilostan-Therapie untersuchten. In der veterinärmedizinischen Literatur finden sich bereits einige Bemerkungen über einen fehlenden Zusammenhang zwischen ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration und klinischer Symptomatik (ALENZA et al., 2006). Es wurde beschrieben, dass Hunde, deren ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentrationen im Zielbereich lagen, trotzdem weiterhin klinische Anzeichen von HAC zeigten (BRADDOCK et al., 2003; BELL et al., 2006). Es wurde somit gefolgert, dass der ACTH-Stimulationstest weder einen sehr spezifischen noch sensitiven Test zur Therapiebewertung der Therapie mit Trilostan darstellt und dass die Beurteilung und Einstellung der Krankheit auf einer gleichzeitigen klinischen Evaluation des Patienten beruhen sollen (BRADDOCK et al., 2003).

Um die klinischen Symptome zu erfassen, wurde in der vorliegenden Studie ein standardisierter Fragebogen für Besitzer erkrankter Hunde verwendet. Standardisierte Fragebögen zur Erfassung und Standardisierung der Anamnese

wurden bereits in früheren Studien genutzt (RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; AUGUSTO et al., 2012). Allerdings wird in den meisten Studien nicht deren exakter Inhalt ausführlich beschrieben (RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003). Dies trifft auch für die Studie von Augusto und Kollegen zu, die angeben, dass der Besitzer über den Allgemeinzustand, das Trink- und Fressverhalten, die Aktivität, das Hecheln und die Nebenwirkungen, wie Erbrechen und Verhaltensänderungen, befragt wurde. Eine Verbesserung der klinischen Symptomatik wurde hier durch Rating- und visuelle Analogskalen erfasst (AUGUSTO et al., 2012).

Durch einen Score/Index, bestehend aus einer Gesamtpunktzahl, kann der klinische Status von Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen und deren Ansprechen auf Therapie erfasst werden. Dies wurde bislang beim caninen HAC noch nicht durchgeführt. Die Vorteile numerischer Indizes liegen in der objektiven Beurteilung des Therapieerfolgs und der dadurch möglichen individuellen Anpassung der Therapie an den Patienten (JERGENS et al., 2010). Auch die Beurteilung des Langzeittherapieerfolgs ist durch die Bestimmung eines klinischen Index möglich (ALLENSPACH et al., 2007). In der Humanmedizin sind Fragebögen, die sich mit der Erfassung des klinischen Krankheitsbildes beschäftigen, sehr gebräuchlich und liefern hilfreiche Informationen bezüglich der Therapieeinstellung betroffener Patienten. Um die Lebensqualität humanmedizinischer Patienten mit HAC zu beurteilen, wurde ein krankheitsbezogener Fragebogen für Patienten entwickelt (WEBB et al., 2008). Um die klinische Symptomatik des HAC bei Hunden zu evaluieren, kann ein krankheitsspezifischer Fragebogen ebenfalls sinnvoll sein. Beruhend auf einer Expertenbefragung wurde in der vorliegenden Studie ein Fragebogen zur Erfassung der Klinik erstellt. Die Expertenbefragung ergab, dass die Symptome Polydipsie, Polyurie, Polyphagie, Anorexie, Apathie, Durchfall und Erbrechen, die Besitzerzufriedenheit sowie die Elektrolyte (Natrium, Kalium) und der ACTH-Stimulationstest (Basis- und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration) besonders wichtig zur Erfassung des Therapieerfolgs seien. In der Expertenbefragung wurden sowohl Endokrinologen aus Europa als auch aus den USA befragt. Es wurden 87 Experten angeschrieben und 28 Experten nahmen an der Befragung teil, welches einer Return-Rate von 32,2 % entspricht. Im Besitzerfragebogen wurde eine fünfstufige Rating-Skala verwendet und mit

Punkten belegt, um die klinischen Symptome zu erfassen. Um Symptome, die durch einen Hypokortisolismus (Erbrechen, Durchfall, Anorexie, Lethargie) hervorgerufen werden, zu erfassen, wurden dichotome Antwortmöglichkeiten („ja“, „nein“) verwendet, da bei Verdacht auf einen erniedrigten Kortisol-Spiegel immer die Durchführung eines ACTH-Stimulationstests angezeigt ist (COOK & BOND, 2010; RAMSEY, 2010) und eine weitere Abstufung dieser Symptome in Schweregrade nicht notwendig ist.

Als Voruntersuchung wurde eine Befragung von Endokrinologen aus Europa und USA durchgeführt, in der die Experten Fragen zu der Durchführung des ACTH-Stimulationstest, den Vorgehensweisen bei der Therapieanpassung, den gewünschten Ziel-Konzentrationen der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration sowie den verwendeten Dosierungen von Trilostan beantworteten. Die Ergebnisse dieser Befragung sollten den derzeitigen wissenschaftlichen Status quo zum Therapiemonitoring repräsentieren und als Grundlage für die Erstellung des Besitzerfragebogens sowie zur Definition des genauen Studienaufbaus der Hauptuntersuchung dienen.

Die Durchführung des ACTH-Stimulationstests variiert von Studie zu Studie (RUCKSTUHL et al., 2002; MCGROTTY et al., 2005; ALENZA et al., 2006; KENEFICK & NEIGER, 2008; VAUGHAN et al., 2008; ARTEAGA et al., 2010; GALAC et al., 2010). Diese Diskrepanz manifestiert sich auch in der Expertenbefragung. In der vorliegenden Studie wurde sich bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstest nach der Expertenbefragung gerichtet. Der Zeitpunkt der Durchführung wurde versucht auf vier Stunden nach der morgendlichen Trilostan-Gabe zu terminieren, da sich dies als Schnittstelle der häufigsten Antworten in der Expertenbefragung darstellte. Es wurden 250 µg synthetisches ACTH i.m. nach Entnahme eines Nullwertes (Basis-Kortisol-Konzentration) verabreicht. 60 Minuten später wurde die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration ermittelt.

In die statistische Auswertung wurden die klinischen Parameter Polydipsie, Polyurie und Polyphagie sowie die Besitzerzufriedenheit eingeschlossen, da diese Parameter in der Expertenbefragung als wichtig bewertet wurden. Die Parameter Erbrechen, Durchfall, Anorexie und Apathie wurden nicht in die statistische Auswertung eingeschlossen, da diese Parameter das Vorliegen eines Hypokortisolismus wiedergeben. Die durchgeführten Laboruntersuchungen

dienten vor allem dem Ausschluss anderer Erkrankungen. In die statistische Auswertung wurden nur Parameter eingeschlossen, die von den Experten in der Expertenbefragung als wichtig erachtet (Natrium-, Kalium-Konzentration) wurden oder die laut veterinärmedizinischer Literatur bei Hunden mit HAC unter Trilostan-Therapie verändert sind und bisher nicht im Vergleich zum ACTH-Stimulationstest untersucht wurden. Somit wurden Thrombozyten, AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, Kalium, Natrium und Phosphat sowie das USG und der UPC in die statistische Datenauswertung eingeschlossen.

Da von manchen Patienten nur eine Untersuchung und von anderen Patienten mehrere Folgeuntersuchungen vorhanden waren, wurde die statistische Auswertung zunächst für alle Untersuchungen ( $n = 61$ ) in der Gesamtheit durchgeführt. Um eine mögliche Unter-/Überschätzung durch Mehrfacheinschluss einzelner Patienten zu beachten, wurden separat noch die Untersuchungen ausgewertet, in denen die Patienten nur einmal täglich Trilostan erhielten. Des Weiteren wurden die neu-diagnostizierten Patienten bei der zweiten Therapiekontrolle (4 – 5 Wochen Therapie) separat betrachtet. Es ergaben sich nur wenige geringfügig unterschiedliche Ergebnisse zwischen den verschiedenen Auswertungsgruppen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen keinen Zusammenhang von klinischen Parametern (Polydipsie, Polyurie, Polyphagie) weder mit Basis-Kortisol-Konzentration noch mit ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration. Dies bedeutet, dass manche Patienten hohe basale und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentrationen aufwiesen und hierbei keine klinischen Symptome eines HAC mehr zeigten, während andere Patienten niedrigere basale und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentrationen hatten und trotzdem symptomatisch für ihre Erkrankung waren. Somit kann ein breiter Bereich der basalen und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration mit einer guten klinischen Kontrolle assoziiert sein. Der gleiche Bereich kann aber auch mit einer schlechten klinischen Kontrolle verbunden sein. Somit kann die Entwicklung von klinischen Symptomen nicht allein auf eine absolute Kortisol-Konzentration zurückgeführt werden.

Organsysteme können in unterschiedlicher Intensität auf GK reagieren. Diese Fähigkeit wird als GK-Sensitivität definiert (BAMBERGER et al., 1996). GK entwickeln ihre Wirkung über den zytoplasmatischen GK-Rezeptor. Der GK-Rezeptor gehört zu den intrazellulären Steroid-Hormon-Rezeptoren, zu denen

auch die Rezeptoren für Vitamin D, Retinsäure und Schilddrüsenhormone zählen (EVANS, 1988; BAMBERGER et al., 1996). Einige Studien zeigen eine direkte Korrelation zwischen GK-Rezeptor-Anzahl und Zellsensitivität zu GK (GEHRING et al., 1984; VANDERBILT et al., 1987). Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass in jedem individuellen Gewebe und Target-Gen die GK-Antwort unterschiedlich ausfällt. So werden zum Beispiel bei manchen Individuen verschiedene Vorgänge durch synthetische GK gefördert, bei anderen Individuen aber nicht. Folglich geht man von einem gewissen Grad an Gewebespezifität bei der Wirkung von GK aus, sogar wenn das gleiche Präparat angewandt wird.

Interindividuelle Unterschiede in der Kortisol-Sensitivität, die in der Humanmedizin beschrieben sind (VERMEER et al., 2004; RUSSCHER et al., 2006) könnten auch beim Hund existieren. Somit gäbe es intraindividuelle Unterschiede in der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration, die bei den einzelnen Patienten benötigt wird, um die klinische Symptomatik des HAC zu kontrollieren (GALAC et al., 2009; GALAC et al., 2010; KOOISTRA & GALAC, 2010, 2012). Diese Theorie wird dadurch bestätigt, dass in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen mit Basis- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration vorlag. Auch die breite Variation an unterschiedlichen Ziel-Kortisol-Konzentrationen nach Stimulation durch ACTH und die unterschiedlichen Dosierungen von Trilostan, die in der veterinärmedizinischen Literatur beschrieben sind (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; ALENZA et al., 2006; BELL et al., 2006; VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2010; RAMSEY, 2010), spiegeln dies wieder. In der Befragung tiermedizinischer Endokrinologen aus USA und Europa (n = 28) ergab sich ebenfalls keine Übereinstimmung für eine Ziel-Kortisol-Konzentration nach ACTH-Stimulation. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie erscheint die Festlegung einer Zielkortisol-Konzentration, um die klinische Therapieeinstellung hinsichtlich der Symptomatik des Hyperkortisolismus zu bewerten, auch nicht sinnvoll.

Die Besitzerzufriedenheit war nur in einer Auswertungsgruppe (ACTH-Stimulationstests (n = 51) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten) invers mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration korreliert ( $r = -0,321$ ;  $P < 0,05$ ). Da davon auszugehen ist, dass die Besitzer bei schlechterer klinischer Einstellung unzufriedener sind, würde dies bedeuten, dass anhand der ACTH-

stimulierten Kortisol-Konzentration eine Aussage über die Besitzerzufriedenheit getroffen werden kann. Allerdings war die Korrelation nur schwach und lag nur in einer Auswertungsgruppe vor und somit sollte die Besitzerzufriedenheit auch schon aus medizinischen Gesichtspunkten nicht als alleiniger Parameter zum Therapiemonitoring genutzt werden.

In früheren Studien wurden bereits die Veränderungen von Laborparametern unter Therapie mit Trilostan bei HAC-Patienten im Vergleich zu den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstests untersucht. In aktuellen klinischen Studien wird der ACTH-Stimulationstest als Goldstandard genutzt, um eine optimale Therapieeinstellung festzulegen. Somit wurden die Laborergebnisse immer im Zusammenhang mit den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest durchgeführt und diskutiert. Ein Vergleich von Laborparametern zur klinischen Symptomatik fehlt bislang. Korrelationsanalysen wurden nur in wenigen Studien durchgeführt, in denen jeweils die Rangkorrelation nach Spearman genutzt wurde (GALAC et al., 2009; COOK & BOND, 2010; BURKHARDT et al., 2013). In einer prospektiven Studie wurde der Zusammenhang zwischen dem UCC und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration bei 18 Hunden mit PDH betrachtet und es konnte mittels der Rangkorrelation nach Spearman kein Zusammenhang zwischen UCC und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration gefunden werden. Es wurde somit gefolgert, dass das UCC keine sinnvolle Alternative zum ACTH-Stimulationstest darstellt, um die optimale Trilostan-Dosis zu ermitteln (GALAC et al., 2009). Auch der Zusammenhang zwischen der endogenen ACTH-Konzentration mit den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest wurde bereits bei Hunden mit PDH (n = 40) untersucht. Es konnte keine Korrelation zwischen der endogenen ACTH-Konzentration mit Basis-Kortisol-Konzentration oder ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration festgestellt werden (BURKHARDT et al., 2013). Die Parameter Hp, CRP, SAA, AP und Cholesterol wurden einzeln und in Kombination betrachtet, um einen Therapiemarker für Patienten mit HAC zu identifizieren. Eine optimale Einstellung wurde anhand eines definierten Kortisol-Bereichs nach ACTH-Stimulation festgelegt. Eine Korrelationsanalyse wurde nicht durchgeführt (ARTEAGA et al., 2010).

Bislang konnte kein Zusammenhang zwischen einem Laborparameter und den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest bei Trilostan-Therapie gefunden werden und somit ein Therapiemarker identifiziert werden. In der vorliegenden Studie

wurden verschiedene Laborparameter (USG, UPC, Thrombozyten, AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, Kalium, Natrium, Phosphat), die in der Literatur bei caninem HAC als verändert beschrieben wurden, auf ihre Korrelation zu den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest überprüft. Es waren nur schwache Korrelationen der Laborparameter UPC, Thrombozyten, Triglyceride, Natrium und Phosphat mit Basis- und ACTH-stimulierter Kortisol-Konzentration vorhanden.

In zwei Auswertungsgruppen (alle ACTH-Stimulationstests (n = 61) bei 25 Hunden und ACTH-Stimulationstests (n = 51) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten) lag eine schwache inverse Korrelation des UPC mit der Basis-Kortisol-Konzentration vor. Dies würde bedeuten, dass bei einer höheren Basis-Kortisol-Konzentration, demnach einer schlechter eingestellten HAC-Erkrankung, ein niedrigeres UPC vorliegt. Aus klinischer Sicht erscheint dies nicht nachvollziehbar, denn in der Literatur ist ein Absinken des UPC unter Therapie beschrieben (SMETS et al., 2012a).

Es lag in einer Auswertungsgruppe (alle ACTH-Stimulationstests (n = 61) bei 25 Hunden) eine schwache Korrelation der Thrombozyten mit der Basis-Kortisol-Konzentration vor. Dies würde bedeuten, dass bei schlechter eingestellten Patienten (höhere Basis-Kortisol-Konzentration) eine höhere Thrombozytenzahl vorliegt. Dies ist nachvollziehbar, da Thrombozytose bei unbehandelten HAC-Patienten beschrieben ist (FELDMANN & NELSON, 2004). Da die Korrelation nur schwach und nur in einer Auswertungsgruppe vorhanden war und zu der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration keine Korrelation festgestellt werden konnte, ist die Relevanz der Thrombozytenzahl als Parameter zur Therapiekontrolle sehr fraglich.

In zwei Auswertungsgruppen (alle ACTH-Stimulationstests (n = 61) bei 25 Hunden und ACTH-Stimulationstests (n = 51) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten) lag eine schwache Korrelation der Triglyceride zu der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration vor. Dies würde bedeuten, dass schlechter eingestellte Patienten (höhere ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration) eine erhöhte Konzentration an Triglyceriden aufweisen. Dies erscheint aus klinischer Sicht nachvollziehbar, da eine Erhöhung der Blutfette bei HAC-Patienten beschrieben ist (FELDMANN & NELSON, 2004). Für die Cholesterol-Konzentration konnte allerdings keine Korrelation festgestellt

werden. Ein möglicher Einfluss einer Futteraufnahme kann nicht ausgeschlossen werden. Als Therapiemarker sind beide Parameter aufgrund der schwachen oder nicht vorhandenen Korrelation nicht zu verwenden.

Teilweise lag eine Korrelation der Natriumkonzentration zu der Basis- oder der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration vor. Bei Patienten mit HAC ist keine Erhöhung des Natriumspiegels beschrieben. Somit erscheint die Bestimmung Natrium-Konzentration zunächst wenig sinnvoll. Da Patienten mit HAC unter Trilostan-Therapie allerdings einen Hypokortisolismus entwickeln können, der mit einer niedrigen Natrium-Konzentration einhergeht, erscheint die festgestellte Korrelation plausibel. Denn niedrige Kortisol-Konzentrationen wären somit mit niedrigen Natriumkonzentrationen assoziiert. Als zusätzlicher Parameter erscheint es sinnvoll die Natriumkonzentration in das Therapiemonitoring einzuschließen, um ein zu starkes Absinken unter Therapie frühzeitig zu erfassen.

In einer Auswertungsgruppe (ACTH-Stimulationstests ( $n = 51$ ) bei 19 Hunden, die Trilostan einmal täglich erhielten) war eine Korrelation der Phosphatkonzentration mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration vorhanden. Eine hohe Phosphat-Konzentration sowie ein Absinken unter Therapie ist bei HAC-Patienten beschrieben (RAMSEY et al., 2005; TEBB et al., 2005) und somit erscheint diese Korrelation nachvollziehbar. Allerdings war auch diese Korrelation nur schwach ausgeprägt und nur in einer Auswertungsgruppe vorhanden.

Betrachtet man insgesamt die Laborparameter im Vergleich zu den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest, kann aus klinischer Sicht geschlussfolgert werden, dass nur ein starker Zusammenhang bedeutend ist. Wenn ein starker Zusammenhang zwischen zwei Parametern vorhanden ist, muss im nächsten Schritt geprüft werden, ob dieser Zusammenhang aus klinischer Sicht plausibel ist, denn eine Korrelation ist nicht gleichbedeutend mit einer kausalen Bedeutung zwischen zwei Variablen.

In der vorliegenden Studie gab es eine signifikante Korrelation zwischen Basis- und Kortisol-Konzentration nach Stimulation mit ACTH ( $r = 0,596 - 0,910$ ;  $P < 0,001 - P = 0,002$ ,  $n = 61$ ), die vier bis sechs Stunden (typischerweise vier Stunden) nach der morgendlichen Trilostan-Gabe gemessen wurde. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen anderer Studien überein, in denen



ebenfalls eine signifikante Korrelation der beiden Parameter vorlag ( $r = 0,68$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 342$  (COOK & BOND, 2010);  $r = 0,80$ ;  $P < 0,0001$ ;  $n = 148$  (BURKHARDT et al., 2013)). In früheren Studien wurde vorgeschlagen, bei klinisch stabilen Patienten die Therapiebewertung basierend auf der Basis-Kortisol-Konzentration, gemessen vier bis sechs Stunden nach der Trilostan-Applikation, durchzuführen. Dies würde den Patienten den ACTH-Stimulationstest und den Besitzern Kosten ersparen. Bei jedem kranken Patienten (Anorexie, Apathie, Erbrechen oder Durchfall) und bei Patienten, die noch Symptome eines Hyperkortisolismus zeigen, sollte allerdings ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt werden, um die Nebennierenfunktion genauer zu beurteilen (COOK & BOND, 2010). In einer späteren Studie wurde von der alleinigen Bestimmung der Basis-Kortisol-Konzentration zur Therapiebewertung abgeraten, da eine korrekte Klassifizierung in exzessive, adäquate und inadäquate Kontrolle, die anhand der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration definiert wurde, durch alleinige Erfassung der Basis-Kortisol-Konzentration nicht möglich war (BURKHARDT et al., 2013). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen weder einen Zusammenhang von klinischer Symptomatik mit der Basis-Kortisol-Konzentration noch mit der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration. Dementsprechend reflektiert weder die Basis-Kortisol-Konzentration noch die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration den klinischen Zustand des Patienten. Beide Parameter sind nicht geeignet, um die klinische Einstellung der Trilostan-Therapie bei HAC-Patienten zu bewerten.

Eine Diskrepanz zwischen den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstests und der klinischen Symptomatik wurde schon zuvor beschrieben. Es wurde allerdings vermutet, dass diese Diskrepanz auf unterschiedliche Zeitabstände zwischen der morgendlichen Applikation von Trilostan und der Durchführung des ACTH-Stimulationstest zurückzuführen sei (BRADDOCK et al., 2003; RAMSEY, 2010). Trotzdem wurde bereits diskutiert, dass die alleinige Durchführung des ACTH-Stimulationstest zur Therapiebewertung bei Patienten, die mit Trilostan behandelt werden, nicht ausreichend ist (RAMSEY, 2010). Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigt, denn es konnte kein Zusammenhang zwischen der klinischen Symptomatik mit der Basis-Kortisol-Konzentration und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration ermittelt werden und die Zeitabstände zwischen morgendlicher Trilostan-Dosis und ACTH-

Stimulationstest waren bei allen Patienten gleich. Der ACTH-Stimulationstest wurde bisher nicht zur Therapiebewertung bei Trilostan-behandelten HAC-Patienten validiert (RAMSEY, 2010; AUGUSTO et al., 2012). Der ACTH-Stimulationstest selbst gibt Aufschluss über die Kapazität der Nebennieren, Kortisol auszuschütten. Der ACTH-Stimulationstest ist wichtig, um die Nebennierenfunktion bei Medikamenten, wie Mitotane (DUNN et al., 1995), und Krankheiten wie Hypoadrenokortizismus (LIFTON et al., 1996; PETERSON et al., 1996) zu bestimmen, denn hier liegen irreversible Veränderungen der Nebenniere vor (RAMSEY, 2010). Trilostan hemmt hingegen die Kortisolproduktion reversibel (POTTS et al., 1978). Der ACTH-Stimulationstest spielt bei klinisch instabilen/kranken Hunden, die Anzeichen eines Hypokortisolismus (Erbrechen, Durchfall, Anorexie, Apathie) zeigen eine wichtige Rolle, um eine Überdosierung von Trilostan auszuschließen (COOK & BOND, 2010; RAMSEY, 2010). Über die Einstellung des Hyperkortisolismus gibt er allerdings nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie keinen Aufschluss. Dies kann durch eine individuelle Kortisol-Sensitivität erklärt werden.

Da Basis- und die ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentrationen nicht mit den klinischen Parametern korreliert waren, wurde in einem zweiten Schritt erforscht, ob eine Korrelation zwischen Laborparameter und den klinischen Symptomen vorliegt.

Es lagen signifikante Korrelationen zwischen den Laborparametern (UPC, USG, Thrombozyten, Natrium, Phosphat, AP, SIAP, Cholesterol) und den klinischen Parametern (Polyurie, Polydipsie, Polyphagie) vor. Die klinischen Parameter waren mit Punkten belegt worden, so dass eine höhere Punktzahl eine bessere klinische Einstellung und somit ein Abklingen der Symptomatik wiedergab.

Aus klinischer Sicht erscheint vor allem die Korrelation zwischen dem USG und dem Schweregrad der Polyurie/Polydipsie relevant. Es bestand zwar nur eine mittlere signifikante Korrelation des USG mit der Bewertung von Polyurie ( $r = 0,537$ ;  $P < 0,001$ ) und Polydipsie ( $r = 0,396$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 47$ ) durch den Besitzer, aber die Urinproben wurden in dieser Studie durch die Besitzer zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Verlauf des gesamten Vormittags entnommen. Eventuell wäre eine höhere Korrelation bei standardisierter Entnahme des Morgenurins vorhanden gewesen. Die vorliegende Korrelation zeigt jedoch, dass

die Besitzer die klinische Symptomatik Polydipsie und Polyurie relativ gut abschätzen können. Bei fehlender Besitzereinschätzung könnte das USG zur Evaluierung der Polydipsie und Polyurie herangezogen werden.

Zusätzlich bestand auch eine schwache Korrelation ( $r = 0,318$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 47$ ) zwischen dem Schweregrad der Polyphagie und dem USG. Somit ist ein Nachlassen der Polyphagie und somit eine bessere klinische Einstellung mit einer höheren Konzentrationsfähigkeit des Urins assoziiert.

Mit einem Nachlassen der Polyphagie war ebenfalls auch ein niedrigeres UPC assoziiert ( $r = -0,552$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 39$ ), was ebenfalls nachvollziehbar erscheint, da das UPC im Verlauf der Therapie absinkt (SMETS et al., 2012a).

Die Korrelation der Polyphagie mit den Thrombozyten erscheint klinisch irrelevant, da dies bedeuten würde, dass eine klinisch bessere Einstellung der HAC-Erkrankung (weniger Polyphagie) mit einer höheren Thrombozytenzahl einhergehen würde.

Die inverse Korrelation des Natriums mit dem Schweregrad der Polyphagie ( $r = -0,348$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 49$ ) bedeutet, dass eine klinisch besser eingestellte Cushing-Erkrankung (weniger Polyphagie) mit einem niedrigeren Natriumspiegel assoziiert ist. Aus klinischer Sicht erscheint dies nachvollziehbar, da bei Addison-Patienten eine verminderte Futteraufnahme und eine Hyponatriämie gesehen werden kann. In das Therapiemonitoring sollten die Elektrolytkonzentrationen mit eingeschlossen werden, um Hinweise auf einen Mineralokortikoid-Mangel zu erhalten.

Die inverse Korrelation des Phosphats mit dem Schweregrad der Polyphagie ( $r = -0,454$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 49$ ) ergibt, dass ein besser eingestellter Patient mit einer niedrigeren Phosphatkonzentration korreliert. Das erscheint plausibel, da erhöhte Phosphatkonzentrationen bei unbehandelten Patienten dokumentiert sind.

Die Erhöhung der AP konnte mit einem Nachlassen der Polyphagie ( $r = -0,344$ ;  $P < 0,014$ ;  $n = 50$ ) und der Polydipsie ( $r = -0,313$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 51$ ) assoziiert werden. Außerdem konnte auch eine Korrelation der SIAP mit einem Nachlassen der Polyphagie ( $r = -0,376$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 49$ ) festgestellt werden. Dies erscheint nachvollziehbar, da in der Literatur bereits beschrieben wurde, dass die Aktivität der AP im Therapieverlauf absinkt (RUCKSTUHL et al., 2002; TEBB et al.,

2005; ALENZA et al., 2006; ARTEAGA et al., 2010). Über die SIAP gibt es bislang keine Untersuchungen.

Eine Korrelation von der Cholesterol-Konzentration mit einer verminderten Polyphagie ( $r = -0,297$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 48$ ) konnte außerdem festgestellt werden, was bedeutet, dass mit einer besseren klinischen Einstellung (Nachlassen der Polyphagie) auch der Cholesterol-Wert absank. Unter Therapie ist auch ein Absinken der Cholesterol-Konzentration beschrieben (RUCKSTUHL et al., 2002; ALENZA et al., 2006).

Insgesamt waren bei den Parametern USG, UPC, Natrium, AP, SIAP und Cholesterol nur schwache bis mittlere Korrelationen, also ein nicht linearer Zusammenhang, zur klinischen Symptomatik nachweisbar und somit kann keiner der Parameter als alleiniger Therapiemarker dienen und die Parameter sind nur ergänzend im Therapiemonitoring von Nutzen.

Es ist beschrieben, dass die Therapie mit Trilostan einen reversiblen Hypokortisolismus, aber auch einen permanenten Hypokortisolismus bedingen kann. Letzteres wird durch eine adrenale Nekrose hervorgerufen (CHAPMAN et al., 2004; REUSCH et al., 2007; RAMSEY et al., 2008; GOJSKA-ZYGMER et al., 2011). Bei Ratten zerstört endogenes ACTH die Nebenniere dosis-abhängig und endogenes ACTH kann bei Hunden mit ACTH-abhängigen HAC, die mit Trilostan behandelt werden, stark ansteigen (WITT & NEIGER, 2004; BURKHARDT et al., 2011). Es wurde daher angenommen, dass die Entwicklung einer Nebennierennekrose auf eine Hypersekretion von ACTH zurückzuführen ist (REUSCH et al., 2007). Um das Risiko der Entwicklung einer Nebennierennekrose zu minimieren, sind kleine Dosiserhöhungen des Medikaments sowie regelmäßige Kontrolluntersuchungen ratsam (NEIGER et al., 2002; RUCKSTUHL et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; WENGER et al., 2004; BARKER et al., 2005; ALENZA et al., 2006; REINE, 2007; VAUGHAN et al., 2008; GALAC et al., 2010; RAMSEY, 2010). Dies wurde in der vorliegenden Studie umgesetzt. Es wurde eine Anfangsdosis von maximal 2 mg/kg eingesetzt und die Dosiserhöhungen erfolgten in kleinen Schritten (1 mg/kg). Es ist bedeutsam, den ACTH-Stimulationstest im Therapiemonitoring weiterhin durchzuführen, um einen Hypokortisolismus zu erfassen (LIFTON et al., 1996; PETERSON et al., 1996). In der vorliegenden Studie zeigten die Patienten zu keinem Zeitpunkt klinische Symptome oder labordiagnostische Veränderungen

eines Hypokortisolismus.

Das Signalement der Patienten, die in die vorliegende Studie eingeschlossen wurden, entspricht HAC-Patienten wie sie in der veterinärmedizinischen Literatur beschrieben sind (RIJNBEEK et al., 1968; LING et al., 1979). Es waren vor allem kleinere Hunde betroffen (medianes Gewicht: 13,2 kg). Es lag keine Geschlechtsprädisposition vor (13 Hunde weiblich, 12 Hunde männlich). Das Alter der Patienten reichte von sieben bis 17 Jahre (median 12 Jahre). Bei den meisten Hunden lag ein ADHAC vor.

Es gibt einige Limitationen der Studie. Die Beurteilung der klinischen Parameter war subjektiv und beruhte nur auf den Beobachtungen und Einschätzungen der Besitzer. Es ist allerdings nicht möglich, den Schweregrad der klinischen Symptomen wie Polyurie, Polydipsie und Polyphagie während der klinischen Untersuchung zu beurteilen, sondern der Tierarzt ist immer auf die Einschätzung des Besitzers angewiesen. Die Daten wurden so objektiv wie möglich gesammelt, da standardisierte Fragebögen für die Besitzer verwendet wurden. Trotzdem ist eine mögliche Über- oder Unterschätzung des Therapieerfolgs nicht vollständig auszuschließen.

Der hier verwendete Fragebogen wurde nicht validiert. Weitere Studien sind notwendig, um den hier verwendeten Fragebogen zu validieren und dessen psychometrische Eigenschaften der Validität und Reliabilität prospektiv zu untersuchen.

Die Studienpopulation war inhomogen. Es wurden sowohl Hunden mit ADHAC als auch mit AIHAC in die Studie eingeschlossen. Da der ACTH-Stimulationstest jedoch bei allen Patienten genutzt wird, um den Therapieerfolg zu beurteilen, sollten die Ergebnisse der Studie für alle Hunde mit HAC gelten, die keine Begleiterkrankungen aufweisen.

Langzeit-Patienten und neu-diagnostizierte Patienten wurden in die Studie eingeschlossen, um eine weitgefächerte Variation des klinischen Bildes sicherzustellen. Die Anzahl der Kontrolluntersuchungen pro Patient waren jedoch sehr variabel. Eine separate statistische Analyse der neu-diagnostizierten und der Langzeit-Patienten veränderte das Ergebnis der Studie nicht. Genauso hatte auch ein einmaliger oder mehrmaliger Einschluss der einzelnen Patienten keinen Einfluss auf die Ergebnisse der statistischen Auswertung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass der ACTH-Stimulationstest nicht sinnvoll ist, um die Trilostan-Dosis bei Hunden, die keine Symptome eines Hypokortisolismus zeigen, anzupassen. Bei klinisch stabilen Patienten kann eine Dosisanpassung nach sorgfältiger Evaluation der klinischen Symptome und der Besitzerzufriedenheit durchgeführt werden. Ideal wäre hier die Entwicklung eines Scoring-Systems. Anhand einer Gesamtpunktzahl könnte der Einstellungsgrad der Patienten ermittelt und Dosisanpassungen vorgenommen werden. Zusätzlich können ausgewählte Laborparameter, wie das USG, sinnvoll sein, um den Status von Polyurie und Polydipsie zu evaluieren, wenn eine zuverlässige Besitzereinschätzung nicht möglich ist. Auch die Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium) sollte Bestandteil des Therapiemonitoring sein, um frühzeitig Hinweise auf einen Mineralokortikoid-Mangel zu erhalten. Der ACTH-Stimulationstest sollte immer bei klinisch instabilen Patienten, die Hinweise auf einen Hypokortisolismus, zeigen (Erbrechen, Durchfall, Anorexie, Apathie), durchgeführt werden (COOK & BOND, 2010; RAMSEY, 2010), um eine exzessive Suppression der Kortisol-Synthese sicher auszuschließen (LIFTON et al., 1996; PETERSON et al., 1996). Somit sollte der ACTH-Stimulationstest Bestandteil des Langzeit-Monitoring bleiben.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Es besteht in der Veterinärmedizin kein Konsens, wie der Therapieerfolg von Hunden mit HAC, die mit Trilostan therapiert werden, erfasst werden soll und wie eine gute Einstellung definiert wird. Hauptsächlich werden Entscheidungen anhand der Ergebnisse eines ACTH-Stimulationstests gefällt. Die klinische Symptomatik wird bislang subjektiv in die Therapiebewertung mit einbezogen. Ziel der vorliegenden Studie war es, den Zusammenhang zwischen Ergebnissen des ACTH-Stimulationstests (Basis-Kortisol-Konzentration und ACTH-stimulierte Kortisol-Konzentration) mit der klinischen Symptomatik (Polyurie, Polydipsie, Polyphagie), der Besitzerzufriedenheit und selektiven Laborparametern (USG, UPC, Thrombozyten, AP, SIAP, Triglyceride, Cholesterol, Natrium, Kalium, Phosphat), die typischerweise bei Hunden mit HAC verändert sind, zu ermitteln, um die Aussagekraft des ACTH-Stimulationstest bei der Therapiebewertung zu überprüfen. Insgesamt wurden 25 Hunde mit HAC in die Studie eingeschlossen, bei denen insgesamt 61 Therapiekontrollen durchgeführt wurden. Bei jeder Therapiekontrolle wurde die Symptomatik durch einen Besitzerfragebogen erfasst, der die Ausprägung von Polyurie, Polydipsie, Polyphagie und das mögliche Vorliegen von Symptomen eines Hypokortisolismus (Erbrechen, Durchfall, Anorexie, Apathie) sowie die Zufriedenheit des Besitzers mit dem Therapieerfolg ermittelte. Der Besitzerfragebogen wurde auf Basis einer Expertenbefragung erstellt. Zur Beurteilung des Schweregrads der Symptome und der Besitzerzufriedenheit wurden die Antwortkategorien als fünfstufige Ratingskala gestaltet, die mit eins bis fünf Punkten belegt wurden, so dass eine hohe Punktzahl eine gute und eine niedrige Punktzahl eine schlechte klinische Einstellung widerspiegelt.

Bei jeder Therapiekontrolle wurde eine klinische Untersuchung, Blutuntersuchungen (Blutbild mit Differentialblutbild, AP, SIAP, Cholesterol, Triglyceride, Elektrolyte), eine Urinuntersuchung (USG, UPC) und ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Mittels der Rangkorrelation nach Spearman wurden die Korrelationen zwischen den klinischen Parametern, der Besitzerzufriedenheit und den Laborparametern mit der Basis- und der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration errechnet. Ebenso wurde die Korrelation zwischen den Laborparametern zu den klinischen Parametern (Polyurie,

Polydipsie, Polyphagie) errechnet.

In der vorliegenden Studie konnte kein Zusammenhang zwischen klinischen Parametern und der Basis- als auch der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration festgestellt werden. Somit ist von einer individuellen Variation in der Entwicklung klinischer Symptome auszugehen, und für das Verschwinden klinischer Symptome kann keine absolute Kortisol-Ziel-Konzentration definiert werden.

Einige Laborparameter (UPC, Thrombozyten, Triglyceride, Natrium, Phosphat) korrelierten schwach mit den Ergebnissen des ACTH-Stimulationstest. Eine klinische Bedeutung kann allenfalls der Korrelation mit Triglyceriden und Phosphat zugerechnet werden, denn ein höherer Kortisol-Spiegel ist mit einer höheren Konzentration an Triglyceriden und Phosphat vereinbar. Aufgrund der nur schwachen Korrelation kann der ACTH-Stimulationstest jedoch nicht durch diese Laborwerte ersetzt werden. Einige Laborparameter (UPC, USG, Thrombozyten, Natrium, Phosphat, AP, SIAP, Cholesterol) korrelierten mit den klinischen Parametern Polyurie, Polydipsie oder Polyphagie. Relevant erscheint die mittlere Korrelation von Polyurie und Polydipsie mit dem USG. Denn eine bessere Urinkonzentrationsfähigkeit ist mit einer verminderten Ausprägung von Polydipsie und Polyurie vereinbar. Bei fehlender Besitzereinschätzung kann das USG möglicherweise als Monitoring-Parameter herangezogen werden. Die übrigen Korrelationen waren nur schwach ausgeprägt. Es erscheint aber nachvollziehbar, dass eine bessere klinische Einstellung mit einem Absinken der AP, der SIAP und des UPC einhergeht. Eine niedrigere Cholesterol-, Natrium- und Phosphatkonzentration waren ebenfalls mit einem Rückgang der Polyphagie assoziiert. Weitere Studien sind notwendig um den Nutzen dieser Parameter als Screeningfaktoren zu prüfen. Die Natrium- und Kaliumkonzentration sollte im Zuge der Therapiekontrollen ermittelt werden aufgrund der möglichen Gefahr eines Hypoadrenokortizismus.

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Studie keine signifikante Korrelation zwischen der Basis- oder der ACTH-stimulierten Kortisol-Konzentration unter Therapie mit den klinischen Parametern bei Hunden mit HAC, die mit Trilostan therapiert wurden. Daher muss die Beurteilung der klinischen Parameter und der Besitzerzufriedenheit mit in die Therapiebewertung einbezogen werden. Eine Einschätzung allein anhand des ACTH-Stimulationstests ist nicht möglich.



## VII. SUMMARY

In veterinary medicine a consensus on how success of therapy in dogs with HAC, treated with trilostane, is assessed and how successful regulation is defined is currently lacking. Clinical decisions are primarily based upon the results of ACTH stimulation tests. Clinical signs are so far only subjectively involved in the therapeutic monitoring. The objective of this study was to investigate the association between ACTH stimulation test results (baseline and ACTH-stimulated cortisol concentrations) and clinical parameters (polyuria, polydipsia, polyphagia), owner's satisfaction with treatment and selective laboratory parameters (USG, UPC, thrombocytes, AP, SIAP, triglycerides, cholesterol, sodium, potassium, phosphate) which are typically altered in dogs with HAC and to confirm the ACTH stimulation test as a monitoring tool in dogs with HAC treated with trilostane.

Twenty-five dogs with HAC were included in the study. Sixty-one recheck events were collected. The history was taken by an owner questionnaire which assessed the severity of polyuria, polydipsia, polyphagia and possible signs of hypocortisolism (vomiting, diarrhea, anorexia, lethargy), and owner's satisfaction with therapy. The owner questionnaire was designed based on consultation of veterinary endocrinologists. A 5 point rating scale was included to measure the severity of symptoms and owner's satisfaction with therapy. A 1 to 5 rating scale was chosen to assess severity of symptoms. A higher value was related to better control of clinical signs.

Every recheck included a physical exam, blood work (complete blood count, cholesterol, triglycerides, AP, SIAP, electrolytes), urinalysis (USG, UPC), and an ACTH stimulation test. The Spearman's rank correlation coefficients between clinical scores, owner's satisfaction with therapy, and laboratory parameters with baseline and ACTH-stimulated cortisol concentration were calculated. Accordingly, correlation between laboratory parameters and clinical signs (polyuria, polydipsia, polyphagia) was calculated.

There was no correlation of clinical parameters with baseline and ACTH-stimulated cortisol concentration. Therefore individual variation in development of clinical signs is likely. For resolution of clinical signs no absolute cortisol

concentration can be defined.

There was a weak correlation of some laboratory parameters (UPC, thrombocytes, triglycerides, sodium, phosphate) with results of ACTH stimulation test. Clinical importance can only be attributed to triglycerides and phosphate levels, because a higher cortisol level is consistent with higher concentrations of triglycerides and phosphate. Due to its overall low correlation it was concluded that the ACTH stimulation test can't be replaced by these laboratory parameter. There was a correlation of some laboratory parameters (UPC, USG, thrombocytes, sodium, phosphate, AP, SIAP, cholesterol) with polyuria, polydipsia, or polyphagia. Clinically relevant was the moderate correlation of polydipsia and polyuria with USG, because a better ability to concentrate urine is consistent with less polydipsia and polyuria. Thus USG may be used for therapeutic monitoring if owner's assessment of polyuria and polydipsia is not available. The other correlations were rather weak. It seems to be comprehensible that a better clinical control is associated with a decline of AP, SIAP and UPC. A low cholesterol, sodium and phosphate concentration were associated with less polyphagia. Further studies are required to evaluate if these parameters are valuable for monitoring purposes. Measuring sodium and potassium concentrations at every recheck seems useful to assess risk of hypoadrenocorticism.

In conclusion, the present study was not able to show any correlation between baseline nor ACTH-stimulated cortisol concentration with the clinical signs of dogs treated for HAC with trilostane. Therefore evaluation of clinical signs and owner's satisfaction with therapy need to be assessed separately during therapeutic monitoring. Assessment of control solely based upon results of the ACTH stimulation test is not possible.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Alenza DP, Arenas C, Lopez ML, Melian C. Long-term efficacy of trilostane administered twice daily in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006; 42: 269-76.

Allenspach K, Wieland B, Grone A, Gaschen F. Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 700-8.

Arteaga A, Dhand NK, McCann T, Knottenbelt CM, Tebb AJ, Evans H, Eckersall PD, Ramsey IK. Monitoring the response of canine hyperadrenocorticism to trilostane treatment by assessment of acute phase protein concentrations. *J Small Anim Pract* 2010; 51: 204-9.

Augusto M, Burden A, Neiger R, Ramsey I. A comparison of once and twice daily administration of trilostane to dogs with hyperadrenocorticism. *Tierarzt Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2012; 40: 415-24.

Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev* 1996; 17: 245-61.

Barker EN, Campbell S, Tebb AJ, Neiger R, Herrtage ME, Reid SW, Ramsey IK. A comparison of the survival times of dogs treated with mitotane or trilostane for pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 810-5.

Baylis C, Brenner BM. Mechanism of the glucocorticoid-induced increase in glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 1978; 234: F166-70.

Bell R, Neiger R, McGrotty Y, Ramsey IK. Study of the effects of once daily doses of trilostane on cortisol concentrations and responsiveness to adrenocorticotrophic hormone in hyperadrenocorticoid dogs. *Vet Rec* 2006; 159: 277-81.

Benckekroun G, de Fornel-Thibaud P, Lafarge S, Gomez E, Begon D, Delisle F, Moraillon R, Heripret D, Maurey C, Rosenberg D. Trilostane therapy for hyperadrenocorticism in three dogs with adrenocortical metastasis. *Vet Rec* 2008; 163: 190-2.

Benckekroun G, de Fornel-Thibaud P, Rodriguez Pineiro MI, Rault D, Besso J, Cohen A, Hernandez J, Stambouli F, Gomes E, Garnier F, Begon D, Maurey-Guenec C, Rosenberg D. Ultrasonography criteria for differentiating ACTH dependency from ACTH independency in 47 dogs with hyperadrenocorticism and equivocal adrenal asymmetry. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 1077-85.

Braddock JA. Diagnosis of hyperadrenocorticism in the dog. *Aust Vet J* 2003; 81: 25-7.

Braddock JA, Church DB, Robertson ID, Watson AD. Trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Aust Vet J* 2003; 81: 600-7.

Burkhardt WA, Guscelli F, Boretti FS, Ivos Todesco A, Aldajarov N, Lutz TA, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS. Adrenocorticotrophic hormone, but not trilostane, causes severe adrenal hemorrhage, vacuolization, and apoptosis in rats. *Domest Anim Endocrinol* 2011; 40: 155-64.

Burkhardt WA, Boretti FS, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS. Evaluation of baseline cortisol, endogenous ACTH, and cortisol/ACTH ratio to monitor trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 919-23.

Caldin M, Tasca S, Carli E, Bianchini S, Furlanello T, Martinez-Subiela S, Ceron JJ. Serum acute phase protein concentrations in dogs with hyperadrenocorticism with and without concurrent inflammatory conditions. *Vet Clin Pathol* 2009; 38: 63-8.

Cavalieri RR, Castle JN, McMahon FA. Effects of dexamethasone on kinetics and distribution of triiodothyronine in the rat. *Endocrinology* 1984; 114: 215-21.

Center SA, Smith CA, Wilkinson E, Erb HN, Lewis RM. Clinicopathologic, renal immunofluorescent, and light microscopic features of glomerulonephritis in the dog: 41 cases (1975-1985). *J Am Vet Med Assoc* 1987; 190: 81-90.

Ceron JJ, Eckersall PD, Martynetz-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005; 34: 85-99.

Chapman PS, Kelly DF, Archer J, Brockman DJ, Neiger R. Adrenal necrosis in a dog receiving trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract* 2004; 45: 307-10.

Cook AK, Bond KG. Evaluation of the use of baseline cortisol concentration as a monitoring tool for dogs receiving trilostane as a treatment for hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 2010; 237: 801-5.

Czekalski S, Knox FG, Dousa TP, Berndt JT, Onsgard M, Holets R. Restoration of phosphaturic response to parathyroid hormone by glucocorticoid treatment in phosphorus-deprived rats. *J Lab Clin Med* 1982; 100: 858-65.

Danese RD, Aron DC. Cushing's syndrome and hypertension. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 299-324.

Dechra Veterinary Products, Vetoryl Behandlungsschema, 2013

Dunn KJ, Herrtage ME, Dunn JK. Use of ACTH stimulation tests to monitor the treatment of canine hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 1995; 137: 161-5.

Eastwood JM, Elwood CM, Hurley KJ. Trilostane treatment of a dog with functional adrenocortical neoplasia. *J Small Anim Pract* 2003; 44: 126-31.

Emeigh Hart SG. Assessment of renal injury in vivo. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2005; 52: 30-45.

Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240: 889-95.

Feldman EC, Nelson RW. Canine Hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome). In: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, St. Louis, MO: W.B. Saunders Company 2004: 187 - 255.

Ferguson DC, Peterson ME. Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1636-40.

Findling JW, Adams ND, Lemann J, Jr., Gray RW, Thomas CJ, Tyrrell JB. Vitamin D metabolites and parathyroid hormone in Cushing's syndrome: relationship to calcium and phosphorus homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1039-44.

Fucik RF, Kukreja SC, Hargis GK, Bowser EN, Henderson WJ, Williams GA. Effect of glucocorticoids on function of the parathyroid glands in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40: 152-5.

Galac S, Buijtels JJ, Kooistra HS. Urinary corticoid: creatinine ratios in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism during trilostane treatment. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 1214-9.

Galac S, Buijtels JJ, Mol JA, Kooistra HS. Effects of trilostane on the pituitary-adrenocortical and renin-aldosterone axis in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *Vet J* 2010; 183: 75-80.

Gehring U, Mugele K, Ulrich J. Cellular receptor levels and glucocorticoid responsiveness of lymphoma cells. *Mol Cell Endocrinol* 1984; 36: 107-13.

Gojska-Zygner O, Lechowski R, Zygnier W. Canine iatrogenic persistent hypoadrenocorticism after short-term treatment of hyperadrenocorticism with trilostane - a case report. *Veterinarski Arhiv* 2011; 81: 699-705.

Golden DL, Lothrop CD, Jr. A retrospective study of aldosterone secretion in normal and adrenopathic dogs. *J Vet Intern Med* 1988; 2: 121-5.

Gould SM, Baines EA, Mannion PA, Evans H, Herrtage ME. Use of endogenous ACTH concentration and adrenal ultrasonography to distinguish the cause of canine hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract* 2001; 42: 113-21.

Goy-Thollot I, Pechereau D, Keroack S, Dezempte JC, Bonnet JM. Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 489-92.

Moosbrugger H., Kevala A. Testtheorie und Fragebogenkonstruktion. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2008: 27-74.

Hurley KJ, Vaden SL. Evaluation of urine protein content in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 369-73.

International Renal Interest Society. <http://www.iris-kidney.com/guidelines/>, 15.09.2014

Javadi S, Kooistra HS, Mol JA, Boer P, Boer WH, Rijnberk A. Plasma aldosterone concentrations and plasma renin activity in healthy dogs and dogs with hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 2003; 153: 521-5.

Javadi S, Galac S, Boer P, Robben JH, Teske E, Kooistra HS. Aldosterone-to-renin and cortisol-to-adrenocorticotrophic hormone ratios in healthy dogs and dogs with primary hypoadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 556-61.

Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, Niyo Y, Ahrens FE, Eckersall PD, Benson TJ, Evans R. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 291-7.

Jergens AE, Crandell JM, Evans R, Ackermann M, Miles KG, Wang C. A clinical

index for disease activity in cats with chronic enteropathy. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 1027-33.

Kemppainen RJ, Sartin JL. Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotrophin, cortisol and thyroxine in dogs. *J Endocrinol* 1984; 103: 219-26.

Kenefick SJ, Neiger R. The effect of trilostane treatment on circulating thyroid hormone concentrations in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract* 2008; 49: 139-43.

Kobelt AJ, Hemsworth PH, Barnett JL, Butler KL. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Res Vet Sci* 2003; 75: 157-61.

Kooistra HS, Galac S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's Syndrome in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40(2): 259-67.

Kooistra HS, Galac S. Recent Advances in the Diagnosis of Cushing's Syndrome in Dogs. *Top Companion Anim Med* 2012; 27: 21-4.

Lifton SJ, King LG, Zerbe CA. Glucocorticoid deficient hypoadrenocorticism in dogs: 18 cases (1986-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 2076-81.

Ling GV, Stabenfeldt GH, Comer KM, Gribble DH, Schechter RD. Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 174: 1211-5.

Lozano LM, Garcia-Cueto E, Muniz J. Effect of the number of response categories on the reliability and validity of rating scales. *Methodology* 2008; 4: 73 - 9.

Martinez-Subiela S, Ginel PJ, Ceron JJ. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *Vet Rec* 2004; 154: 814-7.



Mazzi A, Fracassi F, Dondi F, Gentilini F, Famigli Bergamini P. Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. *Vet Res Commun* 2008; 32 Suppl 1: S299-301.

McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Reid SW, Eckersall PD. Haptoglobin concentrations in a canine hospital population. *Vet Rec* 2003; 152: 562-4.

McGrotty YL, Arteaga A, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Eckersall PD. Haptoglobin concentrations in dogs undergoing trilostane treatment for hyperadrenocorticism. *Vet Clin Pathol* 2005; 34: 255-8.

Meij BP, Mol JA, Bevers MM, Rijnberk A. Alterations in anterior pituitary function of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Endocrinol* 1997; 154: 505-12.

Melian C, Perez-Alenza MD, Peterson M. Hyperadrenocorticism in dogs. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: Elsevier Saunders 2010: 1816.

Neiger R, Ramsey I, O'Connor J, Hurley KJ, Mooney CT. Trilostane treatment of 78 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 2002; 150: 799-804.

Nelson RW, Ihle SL, Feldman EC, Bottoms GD. Serum free thyroxine concentration in healthy dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with concurrent illness. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 198: 1401-7.

Ortega T, Feldman EC, Nelson RW, Feldman M. Plasma aldosterone concentrations in dogs before and after o'p'-DDD therapy for pituitary dependent hyperadrenocorticism (abstract). *J Vet Intern Med* 1995; 9: 182.

Ortega TM, Feldman EC, Nelson RW, Willits N, Cowgill LD. Systemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with

hyperadrenocorticism. J Am Vet Med Assoc 1996; 209: 1724-9.

Peterson ME, Ferguson DC, Kintzer PP, Drucker WD. Effects of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentrations in the dog. Am J Vet Res 1984; 45: 2034-8.

Peterson ME, Kintzer PP, Kass PH. Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979-1993). J Am Vet Med Assoc 1996; 208: 85-91.

Potts GO, Creange JE, Hardomg HR, Schane HP. Trilostane, an orally active inhibitor of steroid biosynthesis. Steroids 1978; 32: 257-67.

Quinn SJ, Williams GH. Regulation of aldosterone secretion. In The Adrenal Gland, 2<sup>nd</sup> edn. Ed V.H.T. James. New York, Raven Press 1992; 159 -189

Ramsey IK, Herrtage ME. Increased parathyroid hormone concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. J Vet Intern Med 2001; 15: 298.

Ramsey IK, Tebb A, Harris E, Evans H, Herrtage ME. Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism. J Small Anim Pract 2005; 46: 531-6.

Ramsey IK, Richardson J, Lenard Z, Tebb AJ, Irwin PJ. Persistent isolated hypocortisolism following brief treatment with trilostane. Aust Vet J 2008; 86: 491-5.

Ramsey IK. Trilostane in dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40: 269-83.

Reine NJ. Medical management of pituitary-dependent hyperadrenocorticism: mitotane versus trilostane. Clin Tech Small Anim Pract 2007; 22: 18-25.

Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl N, Wenger M, Lutz H, Perren A, Pospischil A.

Histological evaluation of the adrenal glands of seven dogs with hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Vet Rec* 2007; 160: 219-24.

Rijnberk A, der Kinderen PJ, Thijssen JH. Spontaneous hyperadrenocorticism in the dog. *J Endocrinol* 1968; 41: 397-406.

Rijnberk A, van Wees A, Mol JA. Assessment of two tests for the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 1988; 122: 178-80.

Rodriguez M, Almaden Y, Hernandez A, Torres A. Effect of phosphate on the parathyroid gland: direct and indirect? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5: 321-8.

Ruckstuhl NS, Nett CS, Reusch CE. Results of clinical examinations, laboratory tests, and ultrasonography in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Am J Vet Res* 2002; 63: 506-12.

Ruppert C, Kraft W. Examinations in dogs with spontaneous hyperadrenocorticism. Part 3: Thyroid hormone concentrations before and after treatment with mitotane (Lysodren®). *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 1999; 27: 167-71.

Russcher H, Smit P, van Rossum EF, van den Akker EL, Brinkmann AO, de Heide LJ, de Jong FH, Koper JW, Lamberts SW. Strategies for the characterization of disorders in cortisol sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 694-701.

Schachter S, Nelson RW, Scott-Moncrieff C, Ferguson DC, Montgomery T, Feldman EC, Neal L, Kass PH. Comparison of serum-free thyroxine concentrations determined by standard equilibrium dialysis, modified equilibrium dialysis, and 5 radioimmunoassays in dogs. *J Vet Intern Med* 2004; 18: 259-64.

Schellenberg S, Mettler M, Gentilini F, Portmann R, Glaus TM, Reusch CE. The

effects of hydrocortisone on systemic arterial blood pressure and urinary protein excretion in dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 273-81.

Sieber-Ruckstuhl NS, Boretti FS, Wenger M, Maser-Gluth C, Reusch CE. Cortisol, aldosterone, cortisol precursor, androgen and endogenous ACTH concentrations in dogs with pituitary-dependant hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Domest Anim Endocrinol* 2006; 31: 63-75.

Smets PM, Lefebvre HP, Kooistra HS, Meyer E, Croubels S, Maddens BE, Vandenabeele S, Saunders JH, Daminet S. Hypercortisolism affects glomerular and tubular function in dogs. *Vet J* 2012a; 192: 532-4.

Smets PM, Lefebvre HP, Meij BP, Croubels S, Meyer E, Van de Maele I, Daminet S. Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2012b; 26: 565-74.

Solter PF, Hoffmann WE, Hungerford LL, Peterson ME, Dorner JL. Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 534-8.

Stolp R, Rijnberk A, Meijer JC, Croughs RJ. Urinary corticoids in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Res Vet Sci* 1983; 34: 141-4.

Tebb AJ, Arteaga A, Evans H, Ramsey IK. Canine hyperadrenocorticism: effects of trilostane on parathyroid hormone, calcium and phosphate concentrations. *J Small Anim Pract* 2005; 46: 537-42.

Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U, Ceron JJ, Paltrinieri S. Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 865-70.

Teske E, Rothuizen J, de Bruijne JJ, Rijnberk A. Corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme in the diagnosis of canine hypercorticism. *Vet Rec* 1989;

125: 12-4.

Torres SM, McKeever PJ, Johnston SD. Effect of oral administration of prednisolone on thyroid function in dogs. *Am J Vet Res* 1991; 52: 416-21.

Vanderbilt JN, Miesfeld R, Maler BA, Yamamoto KR. Intracellular receptor concentration limits glucocorticoid-dependent enhancer activity. *Mol Endocrinol* 1987; 1: 68-74.

Vaughan MA, Feldman EC, Hoar BR, Nelson RW. Evaluation of twice-daily, low-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1321-8.

Vermeer H, Hendriks-Stegeman BI, van Suylekom D, Rijkers GT, van Buul-Offers SC, Jansen M. An in vitro bioassay to determine individual sensitivity to glucocorticoids: induction of FKBP51 mRNA in peripheral blood mononuclear cells. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 218: 49-55.

Waters CB, Adams LG, Scott-Moncrieff JC, DeNicola DB, Snyder PW, White MR, Gasparini M. Effects of glucocorticoid therapy on urine protein-to-creatinine ratios and renal morphology in dogs. *J Vet Intern Med* 1997; 11: 172-7.

Webb SM, Badia X, Barahona MJ, Colao A, Strasburger CJ, Tabarin A, van Aken MO, Pivonello R, Stalla G, Lamberts SW, Glusman JE. Evaluation of health-related quality of life in patients with Cushing's syndrome with a new questionnaire. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 623-30.

Wenger M, Sieber-Ruckstuhl NS, Muller C, Reusch CE. Effect of trilostane on serum concentrations of aldosterone, cortisol, and potassium in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 2004; 65: 1245-50.

Wilson SM, Feldman EC. Diagnostic value of the steroid-induced isoenzyme of alkaline-phosphatase in the dog. *J Am An Hosp Assoc* 1992; 28: 245-50.

---

Witt AL, Neiger R. Adrenocorticotrophic hormone levels in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism following trilostane therapy. Vet Rec 2004; 154: 399-400.

## IX. ANHANG

### 1. Fragebogen für Endokrinologen

#### **Monitoring of Dogs with Hyperadrenocorticism receiving Trilostane**

##### QUESTIONNAIRE

Canine hyperadrenocorticism is a common endocrine disorder. It is usually treated with trilostane. Methods of treatment and monitoring vary among clinicians. The University of Munich is collecting different opinions and approaches of experts.

Please take 10 minutes to answer the following questionnaire carefully.

Your answers remain anonymous.

There are no incorrect answers.

If you have any questions or concerns, please do not hesitate to contact us.

Sophie Glöckner ([s.gloeckner@medizinische-kleintierklinik.de](mailto:s.gloeckner@medizinische-kleintierklinik.de))

Dr. Astrid Wehner ([a.wehner@medizinische-kleintierklinik.de](mailto:a.wehner@medizinische-kleintierklinik.de))

There are 23 questions in this survey

## History

Please assess the value of the following parameters. 1 = not important, 10 = very important

[illegible]





Which parameters are important to decide if dose adjustments are necessary?

Please assess the value of the following parameters. 1 = not important, 10 = very important

[illegible]

If you could only use ONE parameter. Which one would it be?

Please choose only one of the following:

PU/PD ☐

Polyphagia ☐

Coat and skin problems ☐

Physical exam ☐

Alkaline phosphatase ☐

Urine cortisol-to-creatinine-ratio ☐

ACTH stimulation test ☐

Owner's satisfaction with therapy ☐

Other: \_\_\_\_\_

No answer ☐

## Approaches and priorities

How do you inject synthetic ACTH?

Please choose only one of the following:

- |           |                          |
|-----------|--------------------------|
| IV        | <input type="checkbox"/> |
| IM        | <input type="checkbox"/> |
| No answer | <input type="checkbox"/> |

How do you perform an ACTH stimulation test if you monitor trilostane therapy?

Please choose only one of the following:

- |                              |                          |
|------------------------------|--------------------------|
| 4 – 6 hours after trilostane | <input type="checkbox"/> |
| 2 – 4 hours after trilostane | <input type="checkbox"/> |
| At any time point            | <input type="checkbox"/> |
| Other:                       | _____                    |
| No answer                    | <input type="checkbox"/> |

If you perform an ACTH stimulation test to monitor trilostane therapy: What stimulated cortisol target range do you aim for?

Please choose only one of the following:

- |                                    |                          |
|------------------------------------|--------------------------|
| 0.73 – 7.3 µg/dL (20 – 200 nmol/l) | <input type="checkbox"/> |
| 1.5 – 4.4 µg/dL (40 – 120 nmol/l)  | <input type="checkbox"/> |
| 1.5 – 5.5 µg/dL (40 – 150 nmol/l)  | <input type="checkbox"/> |
| 1.5 – 9.1 µg/dL (40 – 250 nmol/l)  | <input type="checkbox"/> |
| 1.8 – 7.3 µg/dL (50 – 200 nmol/l)  | <input type="checkbox"/> |
| 4.4 – 7.3 µg/dL (120 – 200 nmol/l) | <input type="checkbox"/> |
| Other:                             | _____                    |
| No answer                          | <input type="checkbox"/> |

At which time point do you perform the first ACTH stimulation test after starting treatment?

Please choose only one of the following:

- |               |                          |
|---------------|--------------------------|
| After 7 days  | <input type="checkbox"/> |
| After 10 days | <input type="checkbox"/> |
| After 14 days | <input type="checkbox"/> |
| After 4 weeks | <input type="checkbox"/> |
| Other:        | _____                    |
| No answer     | <input type="checkbox"/> |

If you perform an ACTH stimulation test within 7 – 14 days after starting treatment, do you increase the dose of trilostane at this time point if the post stimulated cortisol is not in the desired target range?

Please choose only one of the following:

- |           |                          |
|-----------|--------------------------|
| Yes       | <input type="checkbox"/> |
| No        | <input type="checkbox"/> |
| Other:    | _____                    |
| No answer | <input type="checkbox"/> |

Once your patient is stable how often do you perform an ACTH stimulation test to monitor response to treatment?

Please choose only one of the following:

- |               |                          |
|---------------|--------------------------|
| Every 4 weeks | <input type="checkbox"/> |
| Every 3 month | <input type="checkbox"/> |
| Every 6 month | <input type="checkbox"/> |
| Other:        | _____                    |
| No answer     | <input type="checkbox"/> |

## Dosing of trilostane

If you start treatment with trilostane how do you dose trilostane? Depending on...

Please choose only one of the following:

- Capsule size (e.g. BW < 10 kg = 30 mg  
trilostane, BW 10 – 20 kg = 60 mg  
trilostane) ☐
- Per kg body weight ☐
- Other: \_\_\_\_\_
- No answer ☐

Do you start treatment with trilostane SID or BID?

Please choose only one of the following:

- SID ☐
- BID ☐
- Other: \_\_\_\_\_
- No answer ☐

If you dose per kg BW, which starting dose do you use?

Please choose only one of the following:

- < 2 mg/kg SID ☐
- 2 mg/kg SID ☐
- 2 – 5 mg/kg SID ☐
- 0.5 – 1 mg/kg BID ☐
- 1 – 2,5 mg/kg BID ☐
- Other: \_\_\_\_\_
- No answer ☐

## General data

We need some more information for statistical analysis.

You are ...

Please choose only one of the following:

- |        |                          |
|--------|--------------------------|
| female | <input type="checkbox"/> |
| male   | <input type="checkbox"/> |

How old are you?

Please write your answer here:

---

You are working as a vet since ... years

Please write your answer here:

---

Please name your working facility

Please choose only one of the following:

- |  |                          |
|--|--------------------------|
| university                               | <input type="checkbox"/> |
| private clinic (24hrs care)              | <input type="checkbox"/> |
| private practice (small animal practice) | <input type="checkbox"/> |
| private practice (general practice)      | <input type="checkbox"/> |
| other:                                   | <hr/>                    |

Your comments...

---

---

Thank you for completing this survey.

## 2. Fragebogen für Besitzer



Medizinische Kleintierklinik  
Veterinärstraße 13  
80539 München  
Tel: (089) - 2180 – 2650  
Fax: (089) – 2180 - 6240

### **Fragebogen für Besitzer, deren Hunde unter Hyperadrenokortizismus (Cushing-Syndrom) leiden**

Dieser Fragebogen wird anonym ausgewertet. Ihre Angaben werden vertraulich behandelt.

*So wie Ihr Hund leiden auch viele andere Hunde unter Hyperadrenokortizismus.  
Um in Zukunft die Therapie von Hunden, die an Hyperadrenokortizismus erkrankt sind,  
besser überwachen zu können, wird im Rahmen einer Doktorarbeit dieser Fragebogen  
ausgewertet.  
Wenn Sie diesen Fragebogen sorgfältig ausfüllen, helfen Sie Ihrem und vielen anderen  
Hunden, die Therapie an die individuellen Bedürfnisse der erkrankten Hunde anzupassen.*

***Bitte nehmen Sie sich 15 Minuten Zeit diesen Fragebogen auszufüllen.***

Bitte kreuzen Sie zutreffende Aussagen an oder schreiben Sie Ihre Antwort auf die dafür  
vorgegebenen Linien.

Bei Unklarheiten oder wenn Sie Hilfe im Ausfüllen des Fragebogens benötigen, dann  
wenden Sie sich bitte an [s.gloeckner@medizinische-kleintierklinik.de](mailto:s.gloeckner@medizinische-kleintierklinik.de)



**Teil I: Allgemeine Angaben**

Heutiges Datum: \_\_\_\_\_

**Besitzerdaten: (optional)**

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ, Ort: \_\_\_\_\_

Telefonnummer: \_\_\_\_\_

Email-Adresse: \_\_\_\_\_

Haustierarzt: \_\_\_\_\_

**Patientendaten:**

Name: \_\_\_\_\_

Tierart: Hund

Rasse: \_\_\_\_\_

Gewicht: \_\_\_\_\_ kg

Alter: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

Geschlecht: ☐ weiblich, kastriert  
☐ weiblich, nicht kastriert  
☐ männlich, kastriert  
☐ männlich, nicht kastriert

**Teil II: Management der Krankheit**Behandeln Sie Ihren Hund mit Trilostane (Vetoryl ®)? ☐ Ja ☐ Nein

Wie lange behandeln Sie Ihren Hund schon mit Trilostane (Vetoryl ®)? Seit \_\_\_\_\_ (Datum)

Welche Dosis/Wie viele Kapseln geben Sie Ihrem Hund? Wie viel mg?

☐ 1 mal täglich \_\_\_\_\_ Kapseln mit jeweils \_\_\_\_\_ mg um \_\_\_\_\_ Uhr☐ 2 mal täglich

morgens: \_\_\_\_\_ Kapseln mit jeweils \_\_\_\_\_ mg um \_\_\_\_\_ Uhr

abends: \_\_\_\_\_ Kapseln mit jeweils \_\_\_\_\_ mg um \_\_\_\_\_ Uhr

**Teil III Einschätzung des heutigen Gesundheitszustandes**

Bitte geben Sie an in wie weit die folgenden Aussagen für Sie und Ihren Hund zutreffend sind.

	gar nicht	kaum	etwas	ziemlich	sehr
Mein Hund trinkt zu viel.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mein Hund setzt zu viel Urin ab.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mein Hund frisst zu viel.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Zeigt Ihr Hund momentan Erbrechen? ☐ nein ☐ ja, seit \_\_\_\_\_ Tagen

wenn ja... Wie oft erbricht Ihr Hund?

- ☐ war nur einmalig
- ☐ mehrmals täglich
- ☐ einmal täglich
- ☐ einmal pro Woche
- ☐ einmal pro Monat

Zeigt Ihr Hund momentan Durchfall? ☐ nein ☐ ja, seit \_\_\_\_\_ Tagen

wenn ja... Wie oft setzt Ihr Hund Durchfall ab?

- ☐ weniger als 2mal pro Tag
- ☐ 2-3mal pro Tag
- ☐ 4-5mal pro Tag
- ☐ über 5mal pro Tag

Der Kot ist...

- ☐ fest und normal geformt
- ☐ weich, aber noch geformt
- ☐ breiig
- ☐ wässrig
- ☐ mit Blutbeimengungen
- ☐ mit Schleimbeimengungen
- ☐ sonstiges, \_\_\_\_\_

Ist Ihr Hund momentan apathisch? ☐ nein ☐ ja, seit \_\_\_\_\_ Tagen

Ist die Futtermittelaufnahme Ihres Hundes momentan vermindert? ☐ nein ☐ ja, seit \_\_\_\_\_ Tagen

**Teil IV: Wie schätzen Sie das Gesamtergebnis der Therapie ein?**

Bitte geben Sie an in wie weit die folgenden Aussagen für Sie und Ihren Hund zutreffend sind.

	gar nicht	kaum	etwas	ziemlich	sehr
Ich bin zufrieden mit der Therapie meines Hundes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Teil V: Veränderungen nach Therapiebeginn mit Trilostane**  
(nur bei der ersten Therapiekontrolle auszufüllen)

Bitte geben Sie an in wie weit die folgenden Aussagen für Sie und Ihren Hund zutreffend sind.

Hat sich hinsichtlich der Trinkmenge nach Beginn der Therapie mit Trilostane (Vetoryl ®) eine Veränderung eingestellt?

- ☐ ja, eine Verbesserung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ ja, eine Verschlechterung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ nein, es hat sich keine Veränderung eingestellt
- ☐ Mein Hund hat nie zu viel getrunken.
- ☐ Mein Hund hat vor Therapiebeginn nicht zu viel getrunken, trinkt jetzt aber zu viel.

Hat sich hinsichtlich der Urinmenge nach Beginn der Therapie mit Trilostane (Vetoryl ®) eine Veränderung eingestellt?

- ☐ ja, eine Verbesserung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ ja, eine Verschlechterung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ nein, es hat sich keine Veränderung eingestellt
- ☐ Mein Hund hat nie zu viel Urin abgesetzt.
- ☐ Mein Hund hat vor Therapiebeginn nicht zu viel Urin abgesetzt, setzt jetzt aber zu viel Urin ab.

Hat sich hinsichtlich des Fressverhaltens nach Beginn der Therapie mit Trilostane (Vetoryl ®) eine Veränderung eingestellt?

- ☐ ja, eine Verbesserung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ ja, eine Verschlechterung, nach \_\_\_\_\_ Tagen
- ☐ nein, es hat sich keine Veränderung eingestellt
- ☐ Hier bestand nie ein Problem.
- ☐ Vor Therapiebeginn bestand kein Problem; jetzt allerdings schon.

**Teil VI: Weitere Erkrankungen**

Leidet Ihr Hund unter weiteren Erkrankungen?

☐ Nein

☐ Ja und zwar

Art der Erkrankung:

\_\_\_\_\_

Datum der Diagnose:

Behandlungsmethode / Medikamente:

Ist diese Erkrankung gut kontrolliert?

☐ Ja

☐ Nein, es treten folgende Probleme auf:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Hier ist Platz für Ihre Bemerkungen:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

***Vielen Dank, dass Sie sich Zeit genommen haben,  
diesen Fragebogen auszufüllen!***

## **X. DANKSAGUNG**

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann, die mir die Anfertigung dieser Arbeit und die Mitarbeit als Tierärztin in der Medizinischen Kleintierklinik ermöglicht hat. Ich bedanke mich für ihre Korrekturvorschläge, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. Astrid Wehner, die mir bei der Durchführung der Studie und bei der Betreuung meiner Patienten in der Medizinischen Kleintierklinik stets zur Seite stand. Durch ihre hilfreiche Anleitung und unermüdliche Unterstützung konnte diese Arbeit letztlich fertig gestellt werden.

Besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Carola Sauter-Louis für ihre hilfreichen Vorschläge zur Auswertung der Daten.

Herzlichen Dank an Herrn PD Dr. Christian Stockhaus und Frau Dr. Bianca Desiree Kruse aus der Tierklinik Haar für das Sammeln von Proben und Bereitstellen von Studienteilnehmern.

Allen Mitarbeitern der Medizinischen Kleintierklinik danke ich für die Hilfe bei der Sammlung der Studienteilnehmer und Durchführung der Studie. Ich danke allen, die mich bei der Betreuung der Patienten unterstützt haben und die meine klinische Ausbildung gefördert haben. Vor allem den anderen Doktoranden und Interns danke ich für eine unvergessliche Zeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei allen meinen Freunden, die mich trotz teilweise großer Entfernung in allen Lebenslagen unterstützt und motiviert haben.

Von ganzem Herzen danke ich meiner Familie für ihr Verständnis, ihre Geduld und liebevolle Unterstützung. Besonders danke ich meinen Eltern, die mir nicht nur das Studium, sondern auch die Anfertigung der Doktorarbeit und das Internship ermöglicht haben.